Über die Wirkung eines Cumarinpräparates auf Hausmäuse (Mus musculus L.)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reimar Roll
aus Dresden

1965

Über die Wirkung eines Cumarinpräparates auf Hausmäuse (Mus musculus L.)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Reimar Roll

aus Dresden

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1. Referent: Prof. Dr. phil. Heinrich Kemper
2. Referent: Prof. Dr. phil. Herbert Lüers
Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juni 1965
Tag der Promotion: 31. Juli 1965

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Heinrich KEMPER, möchte ich für die Betreuung meiner Arbeit und für deren ständige Förderung herzlich danken.
Weiterhin bin ich Herrn Wissenschaftlichen Rat Dr. K. BECKER für die Überlassung des Themas und wertvolle Anregungen zu Dank verpflichtet.
Ferner schulde ich dem Bundesgesundheitsamt - Institut für Wasser- Boden- und Lufthygiene - Dank dafür, daß ich in deren Biologischer Abteilung (Leiter: Prof. Dr. H. KEMPER) die praktischen Arbeiten durchführen konnte.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546516_0049

Inhaltsverzeichnis

Seite

A.) Einleitung 3
1. Bisherige Beobachtungen 3
2. Genetische Grundlagen der Resistenz 3
3. Problemstellung 5

B.) Untersuchungsmaterial und -Methoden 8
1. Wirkungsweise des Cumarin 8
2. Verwendetes Tiermaterial 14
3. Fütterung und Haltung der Versuchstiere 16
4. Art und Dauer der Begiftung 17
5. Beschreibung des Probitverfahrens 17

C.) Versuchsergebnisse 22
1. Bestimmung der LD_{50} und LD_{90} 22
a. Einführung zur Bestimmung der LD_{50} und LD_{90} . . 22
b. Numerische Berechnung der LD_{50} und LD_{90} mit fehlerstatistischer Auswertung 25
c. Fütterungsdauer und Überlebenszeit der Versuchstiere 45
d. Tägliche Dosen und Gesamtdosen bei den getöteten Versuchstieren 47
2. Selektionsversuche mit dem Mäusestamm NMRI . . . 49
a. Selektionsreihe 1 bei einer Konzentration von 0,00250% 49
I. Darstellung des Selektionsverlaufes mit fehlerstatistischer Auswertung 49
II. Vergleich der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere . . 57
b. Selektionsreihe 2 bei einer Konzentration von 0,00125% 60
I. Darstellung des Selektionsverlaufes mit fehlerstatistischer Auswertung 60
II. Vergleich der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere . . 66
3. Zuchtversuche 68
a. Zuchtverfahren 68

Seite

b. Zeitliche Abstände zwischen den Würfen der drei benutzten Stämme 71
I. Biologische Grundlagen der Trächtigkeitsdauer 71
II. Die Zeitspannen zwischen den Würfen . . 73
c. Wurfgrößen und Überlebensraten der Jungtiere 78
d. Geschlechtsverhältnis der Nachkommen . . . 84
e. Körpergewichte 7 Wochen alter Versuchstiere 85

D.) Diskussion 86

E.) Zusammenfassung 99

F.) Literaturverzeichnis 101

A.) Einleitung

1. Bisherige Beobachtungen

Aus der Praxis ist hinreichend bekannt, daß nur in seltenen Fällen eine 100%ige Vernichtung einer mit Cumarin bekämpften Mäusepopulation erreicht wird und daß deshalb Mißerfolge in der Freilandbekämpfung nicht ausbleiben werden. Immer wieder werden einzelne Tiere beobachtet, die auf das angewandte Vernichtungsmittel nicht ansprechen und daher auch eine mit großer Sorgfalt durchgeführte Bekämpfungsaktion überleben. Auch bei der Mittelprüfung in Laborversuchen zeigte sich regelmäßig eine mehr oder weniger starke Widerstandskraft einiger Tiere gegenüber dem Gift (K. BECKER, Berlin, mündlich, 1960/1961; WILSON, 1961). Es war daher wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß in jeder genügend großen Freilandpopulation immer einige von Natur aus besonders resistente Mäuse unter einer Vielzahl von sensiblen Individuen existieren (WILSON, 1961). Es mußte also mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die trotz Giftaufnahme überlebenden Mäuse weiterhin lebensfähige und fertile Nachkommen produzieren, die ihrerseits wiederum im Laufe der Zeit zu einer Anreicherung von widerstandsfähigen Tieren führen können.

Ob durch die bisher über längere Zeiträume angewandten Cumarinpräparate bereits eine allmähliche Erhöhung des Sensibilitätsverlustes der Gesamtpopulation eingetreten war, mußte hierbei unberücksichtigt bleiben. Es konnte zumindestens der Verdacht ausgesprochen werden, daß die seit über 10 Jahren angewandten Cumarinpräparate nicht ohne Einfluß auf die genetische Substanz der Hausmäuse geblieben sind. Entsprechende Vergleiche mit der Schadinsektenbekämpfung durch DDT ließen diese Hypothese wahrscheinlich werden.

2. Genetische Grundlagen der Resistenz

Läßt bei wiederholter Anwendung eines Mittels der Erfolg nach, wie es in der Praxis häufig beobachtet wird, so kann dies auf dreierlei Weise erklärt werden:

1. auf einer in diesem Zusammenhang nicht interessierenden "Pseudoresistenz". Sie umfaßt alle jene Fälle, die auf

einer nichterblichen Grundlage beruhen, wie beispielsweise auf unsachgemäßer Anwendung des Mittels oder beträchtlicher Unterdosierung.

2. auf einer physiologisch bedingten individuellen "Giftgewöhnung". Diese Erklärungsmöglichkeit kann jedoch ausgeschlossen werden, da nicht zu erwarten ist, daß bei Mäusen, die über einen längeren Zeitraum mit subletalen Cumarindosen in Berührung gekommen sind, eine Verminderung des Sensibilitätsgrades eingetreten ist.

3. auf einer genetischen Veränderung innerhalb der betreffenden Population. Nur in diesem Falle spricht man von echter Resistenz. Es ist seit langem bekannt, daß bei der Entstehung von Resistenz gegenüber Schädlingsgiften Selektionsvorgänge eine bedeutende Rolle spielen, wobei das verwendete Gift die Funktion des auslesenden Faktors an einem genetisch weitgehend heterogenen Material spielt. Da es sich bei der Entwicklung der Resistenz um Auslesevorgänge innerhalb der betreffenden Schädlingspopulation handelt, müssen von vornherein einzelne mehr oder weniger stark resistente Individuen in der Population existieren. Kommen diese Individuen mit den von vornherein vorhandenen Resistenzfaktoren mit dem verwendeten Gift in Berührung, so sind sie gegenüber den sensibleren Tieren im Vorteil und gelangen deshalb in einem höheren Maße zur Fortpflanzung als die empfindlichen Tiere. Das Genom der Resistenten trägt dabei jeweils mehr zum Aufbau des Genpools der nächsten Generation bei als das Genom der Sensiblen. In jedem Falle ist der Resistenzgrad relativ, d.h. bezogen auf den Empfindlichkeitsgrad der entsprechenden sensiblen Kontrollgruppe, wobei die Geschwindigkeit der Resistenzentstehung von der jeweils gewählten Konzentration des Giftes abhängig ist. Je gründlicher Selektion betrieben wird, d.h. je größer die applizierte Giftmenge ist, um so schneller kann die Sensibilität des Ausgangsstammes herabgemindert werden. Aufgrund des zunehmenden Sensibilitätsverlustes erhöht sich somit die Zahl der Resistenten von Generation zu Generation, während die Sensiblen in der Population abnehmen. Im weiteren Verlaufe wird die erbliche Konstitution durch Kombinationswirkung der resistenzbedingenden Allele so ver-

ändert, daß die Population nur noch in ungenügender Stärke auf das Gift anspricht.

Unterschiede hinsichtlich der Sensibilität sind sicherlich nicht nur auf eine Variabilität der Toleranzen innerhalb einer Population zurückzuführen, sondern auch geographische Faktoren sind zur Beurteilung der Wirksamkeit eines Mittels heranzuziehen. Es ist nicht anzunehmen, daß Populationen aus räumlich weit entfernten Gebieten jeweils die gleiche genetische Konstitution aufweisen und auf das Gift in dem gleichen Maße ansprechen. Durch geographische Isolation über genügend lange Zeiträume können Populationen der gleichen Art eine voneinander abweichende Widerstandsfähigkeit erlangen. Ein Erfolg bei der Bekämpfung von Hausmäusen verschiedener geographischer Areale wird deshalb immer nur relativ zu bewerten sein. Bei einer ersten Cumarineinwirkung weisen verschiedene geographische Rassen von Mus musculus sicherlich unterschiedliche Resistenzgrade auf, wie es bereits bei einer ersten DDT-Einwirkung auf Drosophila melanogaster beobachtet werden konnte (u.a. BOCHNIG, 1951).

3. Problemstellung

Analog der DDT-Resistenz bei Fliegen, Mücken und anderen Schadinsekten und den Resistenzerscheinungen bei Mikroorganismen muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß gegenüber dem Cumarin bei Nagern ebenfalls genetische Faktoren das Merkmal "Resistenz" kontrollieren. Im Schrifttum liegen bisher nur sehr wenige Arbeiten vor, die sich mit Resistenzentstehung infolge Cumarineinwirkung bei Mäusen befassen. REIFF und WIESMANN (1951) kamen in ihren Untersuchungen jedoch zu der Ansicht, daß schwerlich Resistenzerscheinungen auftreten können, da während ihrer Versuche nie Tiere beobachtet wurden, die nicht innerhalb des Streuungsbereiches der Wirkung des Giftes erlagen. Über den Umfang und die Methode dieser Untersuchungen wird nichts mitgeteilt, so daß dieses Ergebnis, dem überwiegend theoretische Erwägungen zugrunde liegen, als unbefriedigt angesehen werden muß, zumal über eventuelle Selektionsversuche keine Angaben gemacht werden. Im Gegensatz dazu berichtete BOYLE (1960) von einer erhöhten

Resistenz bei einer großen Population von Rattus norvegicus gegenüber Warfarin. Wie aus einer ersten Mitteilung zu entnehmen ist, sind die daraufhin vom Autor begonnenen Generationsversuche wahrscheinlich noch im Gange. Über die Versuchsanordnung wurden keine Aussagen gemacht. Auch von WILSON (1961) sind Untersuchungen in diesem Zusammenhang begonnen worden, für die einige resistente Tiere aus einer englischen Mäusepopulation die Grundlage für die weiteren Versuche bilden. Weiterhin berichtete CUTHBERT (1963) über Resistenzerscheinungen gegenüber Warfarin bei Ratten, die aus Westschottland stammten. Im Verlaufe dieser Untersuchungen erwiesen sich 5 von 91 eingefangenen Ratten als hochresistent gegenüber dem verabfolgten Rodentizid. Die Begiftung mit Warfarinködern der Konzentration von 0,005% erstreckte sich zunächst über 10 Tage, nach denen 71 der behandelten Ratten gestorben waren. Nach einer Unterbrechung der Begiftung von 19 Tagen wurden die restlichen 20 Ratten erneut 12 Tage lang mit Giftbrocken der gleichen Konzentration gefüttert. Bis zum 24. Tag der 2. Versuchsreihe starben weitere 15 Ratten, so daß von den 91 Tieren, mit denen der Versuch begonnen wurde, 5 Tiere überlebten. Wenn auch diese 5 überlebenden Ratten eine sehr hohe Toleranz gegenüber dem Warfarin aufwiesen, so konnten dennoch keine Aussagen über den Grad der Resistenz abgeleitet werden. Über Selektionsversuche, die zur Feststellung echter Resistenz notwendig sind, wurden keine Angaben gemacht.

Die vorliegenden Untersuchungen gehen deshalb von der Notwendigkeit aus, Gründe und Ursachen für das Zustandekommen unterschiedlicher Widerstandskraft gegenüber den angewandten Rodentiziden zu analysieren und insbesondere die Wirkung des Giftes auf die Nachkommen zu prüfen. Gerade die Aufklärung der Wirkung der Cumarine auf die Nachkommenschaft gibt wesentliche Hinweise dafür, ob mit einem Ansteigen der Widerstandskraft im Verlaufe der folgenden Generationen zu rechnen ist. Nur bei Kenntnis der Wirkung der Cumarinderivate auf die Hausmäuse können geeignete Maßnahmen ausgearbeitet werden, die eine sachgemäße und wirkungsvolle Bekämpfung der Schädlinge garantieren und Mißerfolge weitgehend ausschließen.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befaßt sich im wesent-

lichen mit Toxizitätsuntersuchungen, die sich hauptsächlich auf LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmungen mit allen daraus resultierenden Nebenaussagen beschränken, während im zweiten Teil einige genetische Aspekte in bezug auf die Resistenz gegenüber dem Rodentizid Cumarin bei Mäusen beschrieben werden.

Um Anhaltspunkte für das Auftreten oder Nichtauftreten von Resistenz gegenüber dem Cumarin zu gewinnen, wurden Generationsversuche mit dem Inzuchtstamm NMRI durchgeführt. Die für die Darstellung der Resistenz notwendige Selektion wurde bei zwei verschiedenen Giftkonzentrationen betrieben, um einen Einblick in den Resistenzverlauf in Abhängigkeit von der Dosis zu erhalten.

Nach dem Versuchsplan war beabsichtigt, möglichst viele Generationen nach der jeweiligen Selektion zu gewinnen, um eine einigermaßen statistisch gesicherte Auswertung vornehmen zu können. Dabei wurde weiterhin eine Klärung der Fragen nach dem Zuchterfolg (Fertilität, Aufzuchtvermögen, Geschlechterverteilung der Nachkommen) und dem Auftreten evtl. pathologischer Veränderungen angestrebt (3.Teil). Gerade im Hinblick auf die Verwendung der Cumarin-Derivate in der medizinischen Therapie erschien die Kenntnis einer möglichen Auswirkung auf den mütterlichen Organismus und den heranwachsenden Embryo von Interesse. Die aus der Medizin bekannte sehr hohe Empfindlichkeit der Frucht gegen Dicumarol (A. LINKE, 1952) veranlaßte uns, diese Fragestellung mit in die Untersuchungen einzubeziehen, wobei allerdings keine exakte Auswertung in teratogener Hinsicht vorgenommen wurde, da diese Aufgabe nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein sollte.

B.) Untersuchungsmaterial und -Methoden

1. Wirkungsweise des Cumarin

Bevor die Untersuchungsmethoden näher beschrieben werden, soll eine kurze Charakterisierung des Wirkungsmechanismus des Cumarin als Einführung dienen.

Als 1942 H. LINK und Mitarbeiter eine bei Rindern aufgetretene Erkrankung (die sogenannte Süßkleekrankheit) untersuchten, die ähnliche Symptome zeigte, wie die schon seit langem bekannte Bluterkrankheit des Menschen, wurde das Cumarin als Ursache für die Herabsetzung der natürlichen Gerinnungsfähigkeit des Blutes erkannt. Die Untersuchungen über diese Krankheit ergaben, daß die betroffenen Tiere Kleeheu gefressen hatten, das in Gärung übergegangen war und das einen hohen Anteil von Pflanzen mit dem Duftstoff Cumarin enthielt. Durch den Gärungsprozeß war das an sich harmlose Cumarin unter Mitwirkung eines Schimmelpilzes in das toxisch wirkende Oxycumarin oder Dicumarol (3,3'-Methylen-bis-4-oxycumarin) umgewandelt worden, das bei Rindern eine hemmende Wirkung auf die Bildung des Prothrombin ausübt, so daß es nicht zur Blutgerinnung kommen konnte.

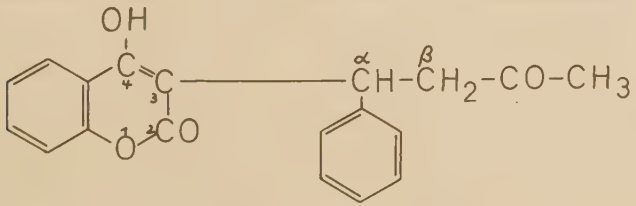
Diese Erkenntnis wurde zunächst in der Humanmedizin nutzbringend verwertet, und zwar in Fällen, wo eine Verminderung der Blutgrinnungsfähigkeit erwünscht war, insbesondere zur Thrombose- und Emboliebekämpfung nach chirurgischen Eingriffen.

Obwohl das Oxycumarin bereits 1902 von ANSCHÜTZ und FRESENIUS synthetisiert worden war, wurde erst nach Bekanntwerden der eigentlichen Zusammenhänge der Wirkungsweise des Cumarin erkannt, daß das Gift auch besondere Möglichkeiten für eine erfolgreiche Ratten- und Mäusebekämpfung bietet. Damit begann einer der wesentlichsten Abschnitte in der modernen Nagetierbekämpfung. Aufgrund systematischer Forschung wurde aus der Gruppe der Cumarin-Derivate zuerst das "Warfarin" oder "Compound 42" (3-(α-Phenyl-ß-acetylaethyl)-4-oxycumarin) entwickelt. In den folgenden Jahren begann man mit der Entwicklung weiterer Cumarin-Derivate (u.a. Cumachlor, Fumarin), die jedoch alle den gleichen Wirkungsmechanismus zeigen und nur

aufgrund ihrer anders gearteten chemischen Struktur gewisse quantitative Unterschiede aufweisen (unterschiedliche Konzentration bei ihrer Anwendung). Ein weiterentwickeltes Präparat wurde unter dem Namen "Pivalyl" oder "Pival" bekannt. Dieses Indandion-Derivat wirkt allein wie Warfarin, kann dieses aber bei Mischung mit demselben aktivieren, so daß man von einem synergistisch wirkenden Zusatz sprechen kann.

In jüngster Zeit (1963) ist ein neuartiges, im Vergleich zu den herkömmlichen Cumarin-Derivaten hochwirksameres Rodentizid ("Prolin") entwickelt worden, das neben dem Warfarin einen antibakteriellen Stoff ("Sulfaquinoxalin") enthält. Die Kombination des Sulfaquinoxalin mit dem Warfarin soll die Mortalitätsquote behandelter Mäuse und Ratten erheblich erhöhen, da das antibakterielle Agens zusätzlich zum Wirkungsmechanismus des Warfarin die für die Vitamin K-Produktion verantwortlichen Bakterien abtötet.

Das erste rein deutsche Präparat stellt das "Actosin" von der Firma Schering AG Berlin dar, das als Wirkstoff das Warfarin enthält und mit dem die vorliegenden Untersuchungen durchgeführt worden sind. Dieses Präparat ist geruch-, geschmack- und farblos und schmilzt bei 165°. Es ist eine in feinen Nadeln kristallisierte, flockige Substanz. Wegen seiner Wasser- und Fettunlöslichkeit bietet dieser Wirkstoff in der Freilandbekämpfung besondere Vorteile.
Die Strukturformel von Warfarin lautet folgendermaßen:



3-(α-Phenyl-ß-acetylaethyl)-4-oxycumarin

Um die keinesfalls nur auf Nagetiere beschränkte Einwirkung der toxischen Cumarinverbindungen verstehen zu können (die Wirkung manifestiert sich generell in den Blutgerinnungssystemen der Säuger), soll zunächst der normale Vorgang der Blutgerinnung vor Augen geführt werden.

Nach MORAWITZ (1905) verläuft die Gerinnung in zwei Phasen. In der ersten Phase wird das Prothrombin, dessen Hauptanteil bei normaler Gallensekretion (MONTIGAL und PULVER, 1952) in der Leber gebildet wird, unter Einwirkung der Thrombokinase (Thromboplastin) und unter Mitwirkung von Calciumionen in Thrombin umgewandelt. Das Thrombin wirkt in der zweiten Phase dann seinerseits auf das Fibrinogen ein und katalysiert daraus über das lösliche Profibrin das unlösliche Fibrin. Obwohl dieses Gerinnungsschema auch heute noch seine Gültigkeit hat, ist bekannt, daß in Wirklichkeit der Gerinnungsvorgang viel komplizierter verläuft. So wird heute der Verlauf der Blutgerinnung als eine komplizierte fermentative Kettenreaktion aufgefaßt, deren Teilreaktionen nacheinander oder auch nebeneinander ablaufen können. Durch das Zusammenwirken zahlreicher Gerinnungsfaktoren kommt ein vielgestaltiger Mechanismus der Blutgerinnung zustande, der jedoch nur in einer kurzen Übersicht dargestellt werden soll.

Neuere Untersuchungen (KOLLER, 1952) haben gezeigt, daß die Cumarine in erster Linie nicht auf das eigentliche Prothrombin einwirken. Der als Prothrombin bezeichnete Faktor zerfällt nämlich in drei Komponenten. Nur die eine Komponente soll das eigentliche Prothrombin darstellen, die die Menge des zu bildenden Thrombus beeinflußt und die wenige Stunden nach Beendigung der Gerinnung im Serum verschwindet. Die beiden anderen Komponenten katalysieren die Umwandlung des Prothrombin in das Thrombin. Sie beschleunigen die Umwandlung in ähnlicher Weise wie die Thrombokinase und werden als Faktoren V und VII bezeichnet. In besonderem Maße trägt der Faktor VII entscheidend zur beschleunigten Bildung des Thrombins bei. Er ist noch mehrere Wochen nach der Blutgerinnung in unverminderter Aktivität im Serum nachzuweisen.

Durch all diese katalytischen Vorgänge kommt es zu einer Erhöhung der Thrombinkonzentration und damit zu einer beschleunigten Fibrinogen-Fibrin-Entstehung. Es läßt sich feststellen, daß das Thrombin im gesamten Gerinnungsablauf eine zentrale Stellung einnimmt. Andererseits stehen dem Organismus geeignete Gegenreaktionen zur Verfügung, um zu vermeiden, daß die einmal in Gang gekommene Gerinnung nicht bis zum völligen

Erstarren des gesamten Blutes führt. Das Fibrin selbst kann wegen seiner Adsorptionsfähigkeit großer Thrombinmengen als Antipol angesehen werden; weiterhin steht die Fibrinolyse zur Verfügung, die einen Abbau des Fibrins in kleinere, lösliche Bestandteile bewirkt.

So ist der Vorgang der Blutgerinnung als ein Gleichgewichtszustand zwischen Reaktion (gerinnungsfördernd) und Antireaktion (gerinnungshemmend) aufzufassen. Wird dieser Gleichgewichtszustand gestört, dann kommt es zu einer verringerten oder vermehrten Gerinnungstendenz des Blutes.

Die 4-Oxycumarine greifen nach den bisherigen Vorstellungen in diesen Ablauf ein, und zwar in die erste Phase des Blutgerinnungsvorganges. Diese Verbindungen haben ihren Angriffsort in der Leber, nicht jedoch direkt innerhalb der Blutbahn. Sie werden deshalb im Gegensatz zu den Heparinen als indirekte Antikoagulantien bezeichnet. Ihre Wirkung beruht letztlich in einer Hemmung bzw. Verhinderung der Biosynthese des Prothrombin. Dieser Effekt wird im wesentlichen durch die Hemmung des Faktors VII (nach neueren Untersuchungen sollen zusätzlich zwei weitere Faktoren (IX und X) beteiligt sein, REPPEL, 1963) erreicht. Andererseits wird durch eine Konzentration des Faktors VII (IX und X) und nicht etwa durch ein Ansteigen des Prothrombingehaltes die gesteigerte Blutgerinnungsfähigkeit hervorgerufen.

Von Interesse ist weiterhin die Beziehung zwischen der chemischen Struktur und der Wirkung der Rodentizide. Ihre Wirksamkeit ist abhängig von zwei wichtigen Voraussetzungen: 1. von der intakten freien Hydroxygruppe in Stellung 4 und 2. von der Art des Substituenten in Stellung 3 des Cumarinsystems. Nach FUČIK ist der 4-Hydroxycumarinring der Träger der Wirksamkeit, wenn die Dissoziation der Hydroxylgruppe durch den Substituenten in 3-Stellung in Richtung vom sauren ins alkalische Gebiet verschoben ist. Der Substituent in 3-Stellung darf außerdem keine saure Gruppe mit unbeweglichem Wasserstoff aufweisen. Ist unter dem Einfluß des Substituenten die Dissoziation der OH-Gruppe in den alkalischen Bereich verschoben, so kommt es nicht zur entgiftenden Hydroxylierung, und die Kumu-

lationsneigung wird erhöht. Diese Bedingungen, die an ein gutes Rodentizid gestellt werden müssen, sind beim Warfarin vollauf erfüllt.

Für die Wirksamkeit ist weiterhin der Einfluß von Substituenten im Benzolring des Cumarinsystems von Wichtigkeit. In der Regel führen Substituenten im Benzolkern zu einer mehr oder weniger starken Wirkungsverringerung, im Extremfall zu einer Wirkungsaufhebung. Die Einführung einer NO_2-Gruppe in p-Stellung führt beispielsweise zu einem Präparat mit geringer Kumulationsneigung, während die Einführung von Chlor zu einem sehr guten Rodentizid führt (Cumachlor).

Da die Prothrombinbildung ferner mit dem Vitamin K_1-Haushalt korreliert ist, greifen die Cumarin-Derivate als Antagonist des Vitamin K in dessen Kreislauf ein. Dieses Vitamin ist für die Bildung der Gerinnungsfaktoren notwendig, die durch die Cumarine gehemmt werden. Es wird angenommen, daß diese Präparate das Vitamin K_1 aus seinem wirksamen Komplex mit einem Apoferment verdrängen und ihrerseits eine unwirksame Komplexverbindung bilden. Die Cumarin-Derivate werden somit auch als Antivitamin des Vitamin K_1 angesehen. Nach REIFF (1952) kann dem Absinken des Prothrombinspiegels mit therapeutisch verabreichten Dosen von Vitamin K_1 wirksam begegnet werden; die Vitamin K_1-Gaben setzen die Cumarine wieder in Freiheit unter Bildung des wirksamen Apoenzym-Vitamin K_1-Komplexes. In der Humanmedizin werden deshalb Vitamin K_1-Gaben bei zu niedrigem Prothrombinspiegel therapeutisch oder prophylaktisch verwendet.

Neben der blutgerinnungshemmenden Wirkung soll nach DYSSEGARD (1952) an den Arterien eine erhöhte Kapillardurchlässigkeit und -brüchigkeit auftreten. So lassen sich die typischen inneren Blutungen der behandelten Tiere erklären. Es bilden sich an den verschiedensten Stellen des Unterhautgewebes (Halsregion, Lendengegend, Lymphdrüsengegend) und bestimmter Organsysteme (Lungengewebe, Brust- und Bauchfell, Eingeweide) Blutareale. Das Blut ist dabei auf eine eigentümliche Weise koaguliert, ohne daß ein regelrechter Blutkuchen gebildet wird. In besonders krassen Fällen gerinnt das ausgetretene Blut überhaupt nicht mehr. Äußerlich sind die Vergiftungserscheinungen

ebenfalls sichtbar. Nach 4 - 5tägiger Behandlung zeigen die meisten Tiere ein gesträubtes und unregelmäßig geordnetes Fell. Von diesem Zeitpunkt an treten die typischen Vergiftungsmerkmale auf. Am Hals, an der Nase, in der Schultergegend, an den Augenlidern und bei weiblichen Tieren am Genitaltraktus kann man mehr oder weniger starke Blutungen feststellen. Die Skala des Umfanges der Blutungen ist hierbei sehr variabel; sie reicht vom völligen Fehlen der Blutungen bis zu stark ausgeprägten Blutungserscheinungen. In diesem Stadium verhalten sich die Tiere apathisch und verweilen ruhig in einer charakteristischen Hockstellung, wobei Nahrung dann nur noch in sehr seltenen Fällen aufgenommen wird. Der Tod kann entweder allmählich infolge hohen Blutverlustes oder plötzlich, schockartig eintreten. Das Absterben scheint demnach nicht nur auf innere Blutungen zurückzuführen zu sein, da beim Schocktod, der regelmäßig in wenigen Minuten eintritt, die Tiere kaum innere Blutungen zeigen. DYSSEGARD (1952) berichtet von einem Zerfall der Erythrozyten, der als mögliche Todesursache Ersticken innerhalb sehr kurzer Zeit zur Folge hat. Im allgemeinen dürften beide Möglichkeiten als Todesursache in Frage kommen, wenn auch der Tod infolge innerer Blutungen der häufigere ist.

Da im Körper unter normalen Bedingungen immer genügend Reserven der Blutfaktoren vorhanden sind, die einer einmaligen gerinnungshemmenden Wirkung des Cumarin als Antagonist entgegenstehen, muß sich die Begiftung über mehrere Tage erstrecken. Nur so ist es zu erreichen, daß die vorhandenen Kinasen angegriffen und abgebaut werden und die kumulative Wirkung der Cumarine vollständig in Erscheinung tritt. Die täglich neuen Giftzufuhren summieren sich schließlich bis zum Erreichen des Letaleffektes.

Besonders interessant ist die Tatsache, daß die Wirksamkeit des Präparates erhöht wird, wenn nur jeden 2. Tag eine Giftgabe erfolgt. In vergleichenden Versuchen wurde festgestellt, daß die Gerinnungszeiten bei täglicher und fraktionierter Verabfolgung des Giftes sehr nahe beieinander liegen. Dies ist dadurch zu erklären, daß schon nach einer Dosis ein anhaltender Prothrombinmangel auftritt. Durch zusätzliche Gaben in den ersten drei Tagen kann die Gerinnungszeit nicht wesentlich

erhöht werden; erst vom 4. Tage ab wird die bei ca 1 Minute liegende Gefahrenzone überschritten, unabhängig davon, ob bei täglicher Verabfolgung oder mit Unterbrechungen von 1 - 2 Tagen. Anschließend steigen dann die Zeitwerte so rapide an, daß eine Erholung nur noch in sehr seltenen Fällen möglich ist. In den vorliegenden Untersuchungen wurde auf die erhöhte Wirksamkeit durch fraktionierte Verabfolgung aus arbeitstechnischen Gründen verzichtet, da eine kontinuierliche Applikation bessere Kontrollmöglichkeiten bietet.

2. Verwendetes Tiermaterial

Die folgenden Untersuchungen wurden an 2 Laborstämmen und an eingefangenen Berliner Wildmäusen durchgeführt. Als Versuchsmaterial dienten die beiden Laborstämme NMRI (Naval Medical Research Institute) und SW und Wildfänge der Unterart Mus musculus domesticus.

Die Versuchstiere des weißen NMRI-Stammes wurden aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover-Linden bezogen. Dieser Stamm kann als genetisch heterogen angesehen werden, da er die zur Anerkennung als Inzuchtstamm notwendige Generationszahl (20 Generationen in Bruder-Schwester-Verpaarung; Cancer Research 20, 147 (1960)) beim Versuchsbeginn noch nicht erreicht hatte. Die Weibchen dieses Stammes zeichnen sich durch eine besonders hohe Fertilität aus, denn die durchschnittliche Wurfgröße beträgt nach Angaben aus Hannover 10 - 12 Jungtiere pro Weibchen, wobei Nachkommen pro Weibchen keine Seltenheit sein soll. Diese Angaben konnten in eigenen Zuchtversuchen nur zum Teil bestätigt werden, da der Durchschnittswert nur selten den Wert 10 erreichte.

Der schwarze SW-Stamm wurde vom Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie, Abteilung für Gewebeforschung (Berlin), übernommen. Dieser Stamm kan als genetisch homogen bezeichnet werden, da er seit 1940 von HACKMANN (Elberfeld) in Bruder-Schwester-Verpaarung ingezüchtet und seit 1951 im Max-Planck-Institut vermehrt wurde. Die Fertilität dieses Stammes ist nicht so groß wie die des NMRI-Stammes; die durchschnittliche Wurfgröße beträgt nur 4 Junge pro Weibchen.

Die für die Versuche benutzten Hausmäuse wurden ausnahmslos in

Berlin in Gebäuden und Stallungen eingefangen.

Alle Weibchen der beiden Laborstämme waren bei Versuchsbeginn virgin. Die weiblichen Tiere der Hausmäuse wurden jeweils 3 - 4 Wochen vor jedem Versuch von den Männchen getrennt, so daß auch sie in keinem Fall trächtig waren. Virginität konnte bei diesen Weibchen jedoch nicht vorausgesetzt werden, da sie bis zum Einfangen aus "freier Wildbahn" sicher jederzeit mit Männchen in Familien oder größeren Populationen zusammenlebten. Eingefangene trächtige Weibchen wurden erst dann für die Versuche verwendet, nachdem sie die geworfenen Jungtiere aufgezogen hatten.

Die für die jeweiligen Versuchsreihen benötigten Mäuse der beiden Laborstämme sind ohne nennenswerte Schwierigkeiten in Massenzuchten vermehrt worden; die Nachzucht der Hausmäuse bereitete hingegen erhebliche Schwierigkeiten, so daß von einer systematischen Zucht der Wildmäuse abgesehen werden mußte. Ursprünglich war vorgesehen, die geplanten Generationsversuche an den eingefangenen Wildmäuse durchzuführen, um die Auswertung möglichst der Praxis anzupassen. Da dies aber letztendlich nicht durchzuführen war, wurde daraufhin der NMRI-Stamm herangezogen, der sich wegen seiner hohen Fertilität für diese Versuche sehr gut eignet. Besonders für die umfangreichen Selektionsversuche erweisen sich nämlich die Wildmäuse als wenig geeignet, da die Generationsfolge der Hausmäuse in Gefangenschaft sehr unregelmäßig auftritt und sich deshalb schlecht kontrollieren läßt. Für genau definierte Versuche erweisen sich aus diesem Grunde Wildmäuse nur bedingt verwendungsfähig. Für die vergleichenden Untersuchungen, insbesondere für die LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmungen, fanden jedoch der Wildstamm und die SW-Tiere Verwendung. Für die Nachzucht der Kontrollreihen gelangten durchschnittlich zwei bis drei Weibchen mit ein bis zwei Männchen zur Verpaarung. In den Selektionsversuchen wurden größtenteils zwei Weibchen mit einem Männchen gepaart; nur in wenigen Fällen war es möglich, ein Männchen mit einem Weibchen zu verpaaren.

3. Fütterung und Haltung der Versuchstiere

Die Fütterung der Mäuse erfolgte mit den herkömmlichen Pellets folgender Zusammensetzung:

Weizen 18%	Weizenkleie 23%
Hafer 18%	Mais 10%
Gerste 8%	Luzernenmehl 3%
Sonnenblumenkerne 3%	Knochenschrot 2,5%
Magermilchpulver 5%	Fischmehl 8%
Waldhof-Futterhefe 1,5%	

Pro 100 kg wurden zugesetzt:

Endobion A (Merck) 20g	Endobion D_3 (Merck) 1,5g
Endobion E (Merck) 20g	Vitamin B_2 (Merck) 0,3g

NaCl 400g, $FeSO_4$ 100g, $CuSO_4$ 6,6g, $MnSO_4$ 35g

Am Anfang des Versuches wurde mit Mischfutter folgender Zusammensetzung gefüttert:

Quetschhafer ca 40%	Hafer ca 20%
Weizen ca 20%	Gerste ca 15%
Garnelen ca 5%	

Dieses Mischfutter scheint jedoch in seiner Zusammensetzung nicht vielseitig genug zu sein, da mehrfach beobachtet werden konnte, daß einige mit dieser Diät gefütterten Tiere Mangelerscheinungen zeigten, die sich in Form von Geburtsschwierigkeiten und erhöhtem Kannibalismus äußerten. Deshalb wurde von einer weiteren Verfütterung dieses Mischfutters abgesehen. Die Ergebnisse der Vorversuche, die aus den Untersuchungen mit diesem Tiermaterial hervorgingen, wurden für die Auswertung nicht mit herangezogen. Ein Vergleich der aus diesen Versuchen gewonnenen Befunde mit den empirischen Werten der nachfolgenden Experimente hätte die Endauswertung nur beeinträchtigt.

Als Zuchtbehälter sowohl für die Massenzuchten als auch für die Einzelzuchten dienten Pultkäfige der herkömmlichen Art, in denen als Unterlage Hobelspäne verwendet wurden.

Die Temperatur des Zuchtraumes schwankte zwischen 20 und 25° während der Untersuchungen; für die Luftfeuchtigkeit können nur die Werte der jeweiligen atmosphärischen Luftfeuchtigkeit

angegeben werden, da eine Regulierung der Feuchtigkeit nicht möglich war. Eine Luftumwälzanlage sorgte aber jederzeit für frische und unverbrauchte Luft. Eine Anlage zur Sterilisation der Streu-Unterlage und der Käfige war nicht vorhanden, so daß eine völlig sterile Haltung der Versuchstiere nicht zu garantieren war. Gelegentlich aufgetretene Ektoparasiten (besonders Milben) wurden mit den herkömmlichen Präparaten mit gutem Erfolg bekämpft.

4. Art und Dauer der Begiftung

Die Begiftung der einzelnen Tiere erfolgte in Pultkäfigen, in denen nur ein Futtergefäß und ein Trinkbehälter zu finden waren. Der Wirkstoff gelangte in chemisch reiner Form zu Anwendung. Alle Tiere erhielten die erforderliche Giftmenge in einem Gemisch aus 95% Semmelmehl und 5% Puderzucker. Aus einer Stamm-Mischung mit der Konzentration von 0.0025% wurde die jeweils für die einzelnen Versuchsreihen gewünschte Konzentration durch Zusatz von weiterem Semmelmehl gewonnen. Die tägliche Giftgemischration während des maximal 10 Tage andauernden Versuchs betrug 2 g pro 15 g Maus. Die verhältnismäßig geringe Menge wurde gewählt, um zu erreichen, daß das Gemisch möglichst restlos aufgefressen wird. Wasser stand in jedem Falle ausreichend zur Verfügung. Während des Versuchs erhielten die Tiere kein anderes Futter zur Auswahl. Bei dieser Versuchsanordnung konnte am nächsten Tag durch Rückwägung einwandfrei die täglich aufgenommene Menge des Semmelmehl-Giftgemisches festgestellt werden, aus der danach die tägliche Giftration leicht zu bestimmen war. Die abgestorbenen Tiere wurden obduziert und auf die charakteristischen Cumarinvergiftungen untersucht.

5. Beschreibung des Probitverfahrens
(nach BUSVINE, J.R., 1957; WEBER, E., 1961)

Bei Toxizitätsversuchen stellt sich heraus, daß jedes Individuum eine ihm eigentümliche Toleranz besitzt. Unterhalb dieser bleiben die Versuchstiere am Leben und oberhalb jener sterben sie ab. Bei den vorliegenden Toxizitätsversuchen mit Cumarin stellt die Toleranz diejenige Konzentration dar, die gerade noch vertragen wird. Wird die Konzentration erhöht, so

sterben die Tiere ab, ist sie geringer als die Toleranz, so bleiben sie am Leben. Wird den Individuen eine bestimmte Dosis n verabreicht, so tritt die Wirkung bei denen auf, deren Toleranzen niedriger als n sind.

In den meisten Fällen ist die Verteilung der Toleranzen für biologische Präparate nicht normal, sondern wird wiedergegeben in einer schiefen Verteilungskurve (FECHNER), wenn auf der Abszisse die absoluten Werte der Konzentrationstoleranzen aufgetragen werden. Die schiefe Verteilungskurve kann durch Auftragen der Logarithmen der Konzentrationen auf die Abszisse in eine symmetrische Kurve übergeführt werden.

Entsprechend erhält man aus der schiefen Summenprozentkurve durch Logarithmierung der Konzentrationen die symmetrische Summenprozentkurve, die typische S-förmige Dosiseffektkurve.

Die S-förmige Summenprozentkurve, der die GAUSS-Verteilung zugrunde liegt, kann durch Transformation der linearen Prozentskala in die lineare Probitskala in eine Gerade übergeführt werden. Zu diesem Zwecke müssen die prozentualen Häufigkeiten (im vorliegenden Falle die Mortalitätswerte) in Probits umgewandelt werden, für deren Umwandlung Tafeln von BLISS (1935) zur Verfügung stehen. Durch die Transformation der linearen Prozentskala in die lineare Probitskala Y wird die Summenkurve dementsprechend in eine Gerade gestreckt, wobei die Punkte 0% und 100% ins Unendliche rücken, da sich die Normalkurve asymptotisch der x-Achse nähert. Die Schätzung der LD_{50} erfolgt dadurch, daß derjenige Wert von X abgelesen wird, für den Y = 5 ist.

Da im vorliegenden Falle zu erwarten ist, daß eine Gerade entsteht, wenn zu den Dosen die entsprechenden Probits aufgetragen werden, kommt für die Probitanalyse die Methode der linearen Regression in Frage. Auf der Abszisse werden die Logarithmen der Dosen (in unserem Falle zweckmäßigerweise +4) und auf der Ordinate die Probits der entsprechenden Häufigkeitsverteilungen aufgetragen, wobei Probits unter 2,5 und über 7,5 vernachlässigt werden können. Die empirischen Probits werden danach in Abhängigkeit von den log-Dosen aufgetragen und durch die Punkte eine provisorische Gerade

gelegt, aus der durch Interpolation für Y = 5 die LD_{50} überschlägig errechnet werden kann. Da jedoch die beobachteten Punkte in den meisten Fällen (besonders bei relativ kleinem n und bei Prüfung einer Reihe von Dosen) sehr verstreut liegen, ist es notwendig, zur Bestimmung der LD_{50} ein arithmetisches Verfahren heranzuziehen, da die graphische Methode zur Schätzung der LD_{50} nur ungenügende Ergebnisse liefert. Zur exakten Bestimmung der LD_{50} stellt die Maximum-Likelihood-Schätzung von R.A.FISHER die geeignete Methode dar.

Aus der provisorischen Linie, die nach Augenmaß durch die empirischen Punkte gelegt wird, können die provisorischen oder erwarteten Probits Y für die Werte der entsprechenden Dosen abgelesen werden, aus denen anschließend zur genaueren Berechnung die korrigierten Probits oder Rechenprobits (working probits) y nach der Formel

$$y = y_o + k \cdot p$$

(p = Prozentsatz der getöteten Tiere, y_o und k aus Tabelle)

zu berechnen sind. Dabei ist stets zu erwarten, daß die Rechenprobits den empirischen Probits näher stehen als den Werten der provisorischen Probits; im Extremfall sind die Rechenprobits identisch mit denen der empirischen Probits.

Um die Regressionsgerade exakt anzupassen, ist es weiterhin notwendig, die Werte eines jeden Punktes mit einem Gewicht zu versehen, die gleich der reziproken Varianz sind. Dem Anpassen der Regressionsgeraden, um die Beziehung zwischen zwei Variablen zu messen, liegt die Annahme zugrunde, daß die Varianz der abhängigen Variablen Y für alle Klassen der unabhängigen Variablen X die gleiche ist. Die Varianz stellt ein Minimum für die LD_{50} dar und geht gegen Unendlich für 100% und 0% der getöteten Tiere.

Die Gewichte ergeben sich als Produkt aus dem entsprechenden Gewichtskoeffizienten (Tabelle) und der Anzahl der getesteten Tiere bei der jeweiligen Konzentration. Diese errechneten Produkte müssen für den weiteren Rechengang addiert werden, wobei die Gewichte in jedem Falle syymetrisch zu Y = 5,0 sind, so daß z.B. Y = 4,0 und Y = 10,0 - 4,0 = 6,0 den gleichen Gewichtskoeffizienten 0,43863 haben.

Zur weiteren Berechnung werden die Gewichte mit den entsprechenden log-Dosen und die Gewichte mit den Arbeitsprobits multipliziert, deren Produkte im Anschluß daran jeweils addiert werden müssen. Aus diesen drei Summen werden die Mittel

$$\bar{x} = \frac{Snwx}{Snw} \qquad \text{und } \bar{y} = \frac{Snwy}{Snw} \qquad \text{berechnet und danach}$$

jeweils nwx mit x, nwy mit y und nwx mit y multipliziert, deren Produkte in analoger Weise summiert werden.
Der Regressionskoeffizient b errechnet sich nach der Formel

$$\frac{Snwxy - \bar{x} \cdot Snwy}{Snwx^2 - \bar{x} \cdot Snwx},$$

der in die Regressionsgleichung eingesetzt wird, die danach lautet: $y = (\bar{y} - b \cdot \bar{x}) + b \cdot x$ oder

$$y = \bar{y} + b(x - \bar{x}).$$

Werden in diese Gleichung die Werte x der log-Dosen, die den jeweiligen provisorischen Probits entsprechen, eingesetzt, dann ist es möglich, nach dem Auftragen der errechneten Punkte die Regressionsgerade zu ziehen. Dabei ist darauf zu achten, daß die berechneten Werte nicht mehr als $\pm$ 0,2 vom vergleichbaren Wert Y (erwartete Probits) abweichen, da sonst eine zu starke Divergenz der Regressionsgeraden von der provisorischen Regressionsgeraden auftritt. Sollte dieser Fall eintreten, dann ist der Rechenvorgang mit einer verbesserten provisorischen Regressionsgeraden zu wiederholen.

Ist die endgültige Gerade gefunden, so wird daraus für Probit 5 der Wert m interpoliert und aus ihm die LD_{50} berechnet, indem dazu der Antilogarithmus (in unserem Falle -4) aufgesucht wird. Den rechnerisch exakten Wert m erhält man, indem die Regressionsgleichung nach x aufgelöst und statt y der Wert 5 (entspricht Probit 5) eingesetzt wird, wobei für x gleich m geschrieben wird. Die Gleichung lautet:

$$m = \frac{5 - \bar{y}}{b} + \bar{x}$$

Um zu prüfen, ob sich die Gerade gut den Beobachtungswerten anpaßt, wird χ^2 berechnet. Die Berechnung von χ^2 erfolgt nach folgender Gleichung:

$$\chi^2 = Snwy_1^2 - \frac{(Snwxy_1)^2}{Snwx_1^2} \quad \text{, wobei für}$$

$$Snwy_1^2 = Snwy^2 - \bar{y} \cdot Snwy,$$

$$Snwx_1^2 = Snwx^2 - \bar{x} \cdot Snwx \text{ und}$$

$$Snwxy_1 = Snwxy - \bar{x} \cdot Snwy \text{ steht.}$$

Bezeichnet n die Anzahl der geprüften Stichproben, so ist die Zahl der Freiheitsgrade f = n - 2. Der zugehörige Wert der Irrtumswahrscheinlichkeit α für n - 2 Freiheitsgrade ist aus einer Tabelle abzulesen und daraus auf Homogenität oder Heterogenität zu prüfen.

Hat χ^2 Homogenität ergeben, wodurch der Beweis einer guten Anpassung der Regressionsgeraden an die Beobachtungswerte erbracht wird, so ist es möglich, die mittlere Abweichung und die Vertrauensgrenzen der LD_{50} unmittelbar zu berechnen. Das mittlere Quadrat von m ist gegeben durch:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{b^2} \left(\frac{1}{Snw} + \frac{(m - \bar{x})^2}{Snwx_1^2} \right)$$

Ist die Differenz zwischen log LD_{50} und $\bar{x}$ gering, so kann das zweite Glied in der Klammer vernachlässigt werden.
Aus dieser Gleichung folgt: $s_m = \sqrt{MQ_{(m)}}$
Die Vertrauensgrenzen sind danach: $m \pm t \cdot s_m$, worin t=1,96 ist.
Durch Aufsuchen der entsprechenden antilog erhält man die Vertrauensgrenzen in ursprünglichen Konzentrationen.
Hat jedoch χ^2 Signifikanz, also echte Heterogenität, ergeben, so muß vor der Berechnung der Vertrauensgrenzen eine Korrektur vorgenommen und die Größe $\mu = \frac{\chi^2}{f}$ eingeführt werden. Die Gewichte sind in diesem Falle überschätzt worden, und deshalb müssen alle Varianzen mit dem Heterogenitätsfaktor μ multipliziert werden, um die Überschätzung wieder auszugleichen.
Das mittlere Quadrat von b ist dann

$$MQ_{(b)} = \frac{\mu}{Snwx_1^2} \quad \text{und} \quad s_b = \sqrt{MQ_{(b)}}$$

Die Vertrauensgrenzen von b berechnen sich aus $b \pm t \cdot s_b$, wobei t den Wert für 5% Überschreitungswahrscheinlichkeit für f = n - 2 Freiheitsgrade darstellt (t aus Tabelle).

Beim Vorliegen von Heterogenität sind die exakten Grenzen der LD_{50}:

$$m + \frac{g}{1-g}\cdot(m - \bar{x}) \pm \frac{t}{b(1-g)} \cdot \sqrt{\left(\frac{1-g}{Snw} + \frac{(m-\bar{x})^2}{Snwx_1^2}\right)\cdot\mu}$$

$$\left(g = \frac{t^2\cdot\mu}{b^2\cdot Snwx_1^2} \right)$$

C.) Versuchsergebnisse

1. Bestimmung der LD_{50} und LD_{90}

a. Einführung zur Bestimmung der LD_{50} und LD_{90}

Die Toxizitätsversuche zum Zwecke der LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmung wurden mit den drei Mäusestämmen NMRI, SW und Mus musculus domesticus bei verschiedenen Konzentrationen des Actosins durchgeführt.

Als Maß für die Wirksamkeit des Präparates sind nach Vorversuchen die am günstigsten erschienenen Konzentrationen gewählt worden, wobei eine getrennte Protokollierung der Versuchsergebnisse der Männchen und Weibchen erfolgte.

Die Dosis, bei der 50% der getesteten Tiere getötet werden, ist nach der beschriebenen Methode verhältnismäßig einfach zu bestimmen, und die Genauigkeit ist im Vergleich zur LD_{90} sehr viel größer, da bei Bestimmung der LD_{50} die Konzentrationen unter und über diesem Punkt gleichermaßen zum Ergebnis beitragen, während für hohe Dosen (LD_{90}) die Konzentrationen oberhalb dieses Punktes keine weiteren Informationen liefern. Trotzdem wurde die LD_{90} bestimmt, da in der Praxis ein großes Interesse an Dosen besteht, die eine nahezu 100%ige Wirkung hervorrufen.

Um die Versuche möglichst den natürlichen Gegebenheiten anzupassen, wurden Versuchstiere aller Altersklassen verwendet, da im Freilandversuch ebenfalls Tiere aller Altersstufen er-

faßt werden. In diesem Zusammenhange wird darauf hingewiesen, daß wegen der höheren Empfindlichkeit trächtiger Weibchen im vorliegenden Falle nur virgine (NMRI und SW) bzw. nicht-trächtige Weibchen (M.m. domesticus) begiftet worden sind. Da bei Freilandbekämpfungen auch die Gruppe trächtiger Weibchen mit erfaßt wird, ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die LD_{50} bzw. LD_{90} aus den Laborversuchen höher liegt als die, welche für die Gesamtheit aller wildlebenden Weibchen zu veranschlagen ist. Bei der Bestimmung der experimentell ermittelten Mortalitätswerte wird auch hier vorausgesetzt, daß nach maximal 10tägiger Behandlung eine ausreichende Grundlage für die Beurteilung der toxikologischen Wirksamkeit des Präparats gegeben ist. Aufgrund der Kenntnisse der biologischen Wirksamkeit des Actosins können diejenigen Tiere, die eine 10tägige Behandlung ohne sichtbaren Schaden überstehen, als ausreichend resistent gegenüber der betreffenden Konzentration angesehen und in die Gruppe der Überlebenden eingereiht werden.

Diejenigen Mäuse, die während der Behandlung in dem genannten Zeitraum eine tageweise auftretende, jedoch nicht zum Tod führende Schädigung zeigten, wurden ebenfalls in die Reihe der Resistenten eingestuft, da diese zwischenzeitlich geschädigten Tiere nach wenigen Tagen eine relativ hohe Vitalität wiedererlangten, wenn auch mitunter im Anschluß daran noch ein gewisser Schadeffekt zu erkennen war. Im allgemeinen konnte ein Nachlassen der Giftwirkung beobachtet werden, so daß nach spätestens 3 - 4 Tagen eine sichere Beurteilung dieser Mäuse möglich war. In nur sehr wenigen Fällen führte die Giftwirkung nach dieser Periode noch zum Tod.

Mit Hilfe der vorliegenden Bestimmungen der LD_{50} und der LD_{90}, die an den drei Mäusestämmen durchgeführt worden sind, sollte festgestellt werden, ob Stammesunterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit gegen Cumarin auftreten. Die Prüfung war von besonderem Interesse, da, wie gesagt, die Vermutung besteht, daß Populationen von Mus musculus aus geographisch weit entfernten Gebieten unterschiedliche Gifttoleranzen aufweisen. Für die Planung weiterer Hausmausbekämpfungsaktionen erschien die Klärung dieser Fragestellung von großer Bedeutung, denn es war bisher nur selten möglich, in verschie-

denen Gegenden Deutschlands gleiche Ergebnisse bei der Hausmausbekämpfung zu erzielen. Infolge geographischer Isolation ist es durchaus denkbar, daß unterschiedliche Empfindlichkeitsgrade einerseits zwischen Mäusepopulationen aus dem Norden und dem Süden und andererseits zwischen den Unterarten M.m. domesticus (Westeuropa) und M.m. musculus (Osteuropa: östlich der Linie Elbe/Zwickauer Mulde) existieren. Die aus der Praxis gewonnenen Erfahrungen in bezug auf unterschiedliche Bekämpfungsergebnisse und die aus theoretischer Sicht aufgestellte Hypothese unterschiedlicher Widerstandskraft verschiedener Mäuserassen lassen sich bei Betrachtung der empirischen Resultate in angemessener Form in Einklang bringen. Ein weiterer Gesichtspunkt dieser Untersuchungen war die Beurteilung der bei gleicher Giftkonzentration gegenübergestellten und dabei stets getrennt protokollierten Versuchsergebnisse der Männchen und der der Weibchen.

Wenn auch die Versuche nicht mit verschiedenen Hausmausrassen durchgeführt wurden (eine Realisierung der angestrebten Forderung war aus technischen Gründen nicht möglich), so können doch aus der Gegenüberstellung der Versuchsergebnisse der domesticus-Mäuse und der beiden Laborstämme mit genügend großer Sicherheit Rückschlüsse auf mögliche Empfindlichkeitsunterschiede gezogen werden.

Hierbei wird darauf hingewiesen, daß alle in Berlin eingefangenen Wildmäuse zur domesticus-Unterart gerechnet worden sind, obwohl aufgrund ökologischer Kenntnisse auch Tiere der M.m. musculus-Konstitution zu erwarten waren, da in der Berliner Gegend teilweise beide Unterarten und Mischpopulationen auftreten. Es hat sich aber gezeigt (ZIMMERMANN, K., 1949), daß im Berliner Raum ein riesiger domesticus-Bestand existiert, der nach allen Seiten Ausstrahlungen bis zu 20 km aufweist. Es wird im allgemeinen angenommen, daß die Berliner Hausmauspopulation zu ca 90% aus dem domesticus- und zu ca 10% aus dem musculus-Bestand zusammengesetzt ist. Die eingefangenen Mäuse wurden deshalb der domesticus-Gruppe zugeordnet.

b. Numerische Berechnung der LD_{50} und LD_{90} mit fehlerstatistischer Auswertung

In den folgenden 6 Tabellen werden die numerischen Werte für die LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmung wiedergegeben, an die sich mit einer fehlerstatistischen Auswertung die jeweiligen Rechengänge anschließen, wobei in Tabelle 1.) der Übersicht halber der genaue Rechengang in ausführlicherer Form dargestellt wird als in den übrigen 5 Berechnungen. Die entsprechenden Probit-Regressionsgeraden sind in den Abbildungen 1 - 6 zu finden. Die jeweils unterbrochenen Linien stellen die provisorischen Geraden und die durchgehenden Linien die endgültigen Regressionsgeraden dar.

Aus den errechneten Werten der LD_{50} und der LD_{90}, die aus einem Material von insgesamt 2 108 Versuchstieren gewonnen worden sind, ist ersichtlich, daß sich Empfindlichkeitsunterschiede einerseits zwischen den drei Stämmen und andererseits zwischen den Weibchen und den Männchen des gleichen Stammes ergeben haben.

Tabelle 1: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Weibchen von NMRI

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00250	151	83,4	1,3979	5,970	6,13	5,961	0,405	61,155	85,489	364,545
0,00125	105	77,1	1,0969	5,742	5,60	5,736	0,558	58,590	64,267	336,072
0,00090	235	67,2	0,9542	5,445	5,34	5,442	0,616	144,760	136,130	787,784
0,00060	44	50,0	0,7782	5,000	5,04	5,000	0,636	27,984	21,771	139,920
0,00045	54	31,5	0,6532	4,518	4,81	4,530	0,627	33,858	22,116	153,377
0,00032	42	28,6	0,5051	4,435	4,54	4,436	0,581	24,402	12,325	108,247
	631							350,749	344,098	1889,945

1.) Berechne: $\bar{x} = \frac{nwx}{nw} = \frac{344,098}{350,749} = 0,981$ $\qquad \bar{y} = \frac{nwy}{nw} = \frac{1889,945}{350,749} = 5,3883$

2.) Berechne: $Snwx^2 = Snwx \cdot x = 359,416$ $\quad Snwy^2 = Snwy \cdot y = 10\ 263,465$ $\quad Snwxy = Snwx \cdot y = 1\ 893,651$

3.) Wert b: $b = \frac{Snwxy - (\bar{x} \cdot Snwy)}{Snwx^2 - (\bar{x} \cdot Snwx)} = \frac{1\ 893,651 - (0,981 \times 1\ 889,945)}{359,416 - (0,981 \times 344,098} = \frac{39,615}{21,856} = 1,8126$

4.) Regressionsgerade y: $y = (\bar{y} - b\ \bar{x}) + bx$

$= (5,3883 - 1,8126 \times 0,981) + bx$

$y = 3,6101 + 1,8126 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (Snwy^2 - \bar{y} \cdot Snwy) \frac{(Snwxy - \bar{x} \cdot Snwy)^2}{(Snwx^2 - \bar{x} \cdot Snwx)}$

$\chi^2 = (10\,263{,}465 - 5{,}3883 \times 1\,889{,}945) - \frac{(39{,}615)^2}{21{,}856}$

$= 79{,}874 - 71{,}806 = 8{,}07$

$\chi^2_4 = 8{,}07 \qquad f = 4 \qquad \alpha_4 = 10\%$

6.) Einsetzen des Wertes x in die Regressionsgleichung y für die entsprechenden erwarteten Probits

$Y_{6,13} = 6{,}14$ (+0,01) $\qquad Y_{5,60} = 5{,}60$ ($\pm$0,00)

$Y_{5,34} = 5{,}34$ ($\pm$0,00) $\qquad Y_{5,04} = 5{,}02$ (-0,02)

$Y_{4,81} = 4{,}79$ (-0,02) $\qquad Y_{4,54} = 4{,}52$ (-0,02)

Nach dem Eintragen dieser Punkte in die graphische Darstellung, durch die eine Gerade gelegt wurde, kann für $Y = 5{,}0$ (Probit 5) die LD_{50} und für $Y = 6{,}28$ (Probit 6,28) die LD_{90} dadurch überschlagsmäßig durch Interpolation abgelesen werden, indem für den Wert m der antilog (-4) aufgesucht wird.

m (LD_{50}): = 0,765 $\quad LD_{50}$ = num (0,765-4) = 0,00058%

m (LD_{90}): = 1,473 $\quad LD_{90}$ = num (1,473-4) = 0,00297%

7.) LD_{50}-Bestimmung: Für $Y = 5$ und $x = m$ wird $m = \frac{5 - \bar{Y}}{b} + \bar{x}$

$= \frac{5{,}0000 - 5{,}3883}{1{,}8126} + 0{,}981 = -0{,}2142 + 0{,}981 = 0{,}7668$

LD_{50} = num (0,7668 - 4) = 0,00058%

8.) Berechne die mittlere Abweichung der LD_{50}:

$MQ_{(m)} = \frac{1}{1{,}8126^2} \left(\frac{1}{350{,}749} + \frac{(-0{,}2142)^2}{21{,}856}\right) = 0{,}001281$

$s_m = \sqrt{0{,}001281} = 0{,}03579$

9.) Vertrauensgrenzen: $0{,}7668 \pm 1{,}96 \times 0{,}03579$

$= 0{,}7668 \pm 0{,}0701$

Grenzen: 0,6967 und 0,8369 $\hat{=}$ 0,00049% bis 0,00068%

10.) Berechnung der LD_{90}:

$m = \frac{6{,}2800 - 5{,}3883}{1{,}8126} + 0{,}981 = 0{,}4919 + 0{,}981 = 1{,}4729$

LD_{90} = num (1,4729 - 4) = 0,00297%

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$MQ_{(m)} = \frac{1}{1{,}8126^2} \left(\frac{1}{350{,}749} + \frac{(0{,}4919)^2}{21{,}856}\right) = 0{,}004026$

$s_m = \sqrt{0{,}004026} = 0{,}06345$

12.) Vertrauensgrenzen der LD_{90}: $1{,}4729 \pm 1{,}96 \times 0{,}06345$

$= 1{,}4729 \pm 0{,}1244$

Grenzen der LD_{90}: 1,3485 und 1,5973 $\hat{=}$ 0,00228% bis 0,00395%

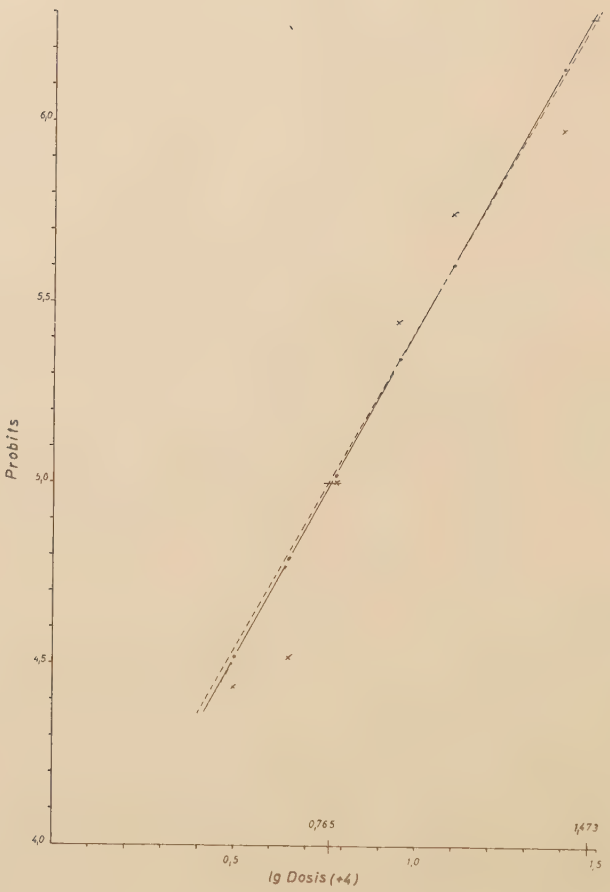


Abb. 1: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 1 (NMRI Weibchen)

Tabelle 2: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Männchen von NMRI

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00250	142	94,4	1,3979	6,589	6,52	6,585	0,269	38,198	53,498	251,457
0,00125	103	85,4	1,0969	6,054	5,94	6,044	0,471	48,513	53,214	239,213
0,00090	46	73,9	0,9542	5,640	5,66	5,639	0,532	24,472	23,351	137,997
0,00060	25	64,0	0,7782	5,359	5,32	5,358	0,616	15,400	11,984	82,513
0,00045	229	49,7	0,6532	4,993	5,07	4,992	0,634	145,186	94,835	726,969
0,00032	35	37,1	0,5051	4,671	4,78	4,673	0,627	21,945	11,084	102,749
$0,00022_5$	35	28,6	0,3522	4,435	4,48	4,436	0,581	20,335	7,162	90,206
	615							314,049	255,128	1685,104

1.) $\bar{x} = \frac{255,128}{314,049} = 0,8124$ $\qquad \bar{y} = \frac{1\,685,104}{314,049} = 5,3657$

2.) $Snwx^2 = 236,830$ $\qquad Snwy^2 = 9\,157,119$ $\qquad Snwxy = 1\,426,468$

3.) Wert b: $b = \frac{1\,426,468 - (0,8124 \times 1\,685,104)}{236,830 - (0,8124 \times 255,128)} = \frac{57,490}{29,564} = 1,9445$

4.) Regressionsgerade y: $y = (5,3657 - 1,9445 \times 0,8124) + bx = 3,786 + 1,9445 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (9\,157,119 - 5,3657 \times 1\,685,104) - \frac{(57,490)^2}{29,564} = 3,567$

$\chi^2_5 = 3,567$ $\qquad f = 5$ $\qquad \alpha_5 = 60\%$

6.) $Y_{6,52} = 6,50\ (-0,02)$
$Y_{5,94} = 5,92\ (-0,02)$
$Y_{5,66} = 5,64\ (-0,02)$
$Y_{5,32} = 5,30\ (-0,02)$
$Y_{5,07} = 5,06\ (-0,01)$
$Y_{4,78} = 4,77\ (-0,01)$
$Y_{4,48} = 4,47\ (-0,01)$

$m_{(LD_{50})} = 0,623$
$LD_{50} = \text{num}\ (0,623 - 4)$
$= 0,00042\%$

$m_{(LD_{90})} = 1,288$
$LD_{90} = \text{num}\ (1,288 - 4)$
$= 0,00194\%$

7.) LD_{50}-Bestimmung: $m = \frac{5,0000 - 5,3657}{1,9445} + 0,8124$
$= 0,1881 + 0,8124 = 0,6243$
$LD_{50} = \text{num}\ (0,6243 - 4) = 0,00042\%$

8.) Mittlere Abweichung der LD_{50}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,9445^2}\left(\frac{1}{314,049} + \frac{(-0,1881)^2}{29,564}\right) = 0,001163$$

$$s_m = \sqrt{0,001163} = 0,0341$$

9.) Vertrauensgrenzen der LD_{50}:
$0,6243 \pm 1,96 \times 0,0341 = 0,6243 \pm 0,0668$
Grenzen: 0,5575 und 0,6911 $\triangleq$ 0,00036% bis 0,00049%

10.) LD_{90}-Bestimmung: $m = \frac{6,2800 - 5,3657}{1,9445} + 0,8124$
$= 0,4702 + 0,8124 = 1,2826$
$LD_{90} = \text{num}\ (1,2826 - 4) = 0,00192\%$

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,9445^2}\left(\frac{1}{314,049} + \frac{(0,4702)^2}{29,564}\right) = 0,002723$$

$$s_m = \sqrt{0,002723} = 0,05218$$

12.) Vertrauensgrenzen der LD_{90}:
$1,2826 \pm 1,96 \times 0,05218 = 1,2926 \pm 0,1023$
Grenzen: 1,1803 und 1,3849 $\triangleq$ 0,00151% bis 0,00242%

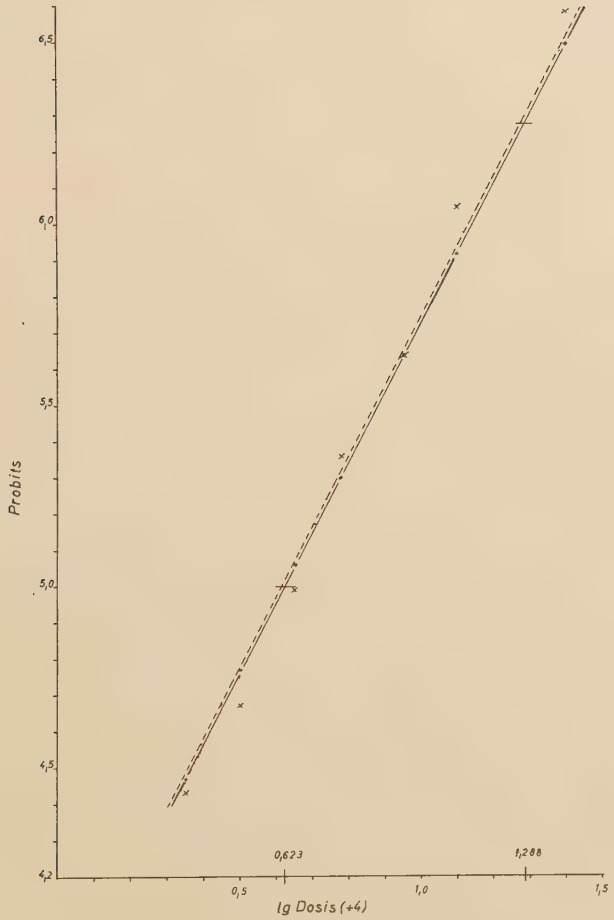


Abb. 2: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 2 (NMRI Männchen)

Tabelle 3: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Weibchen von Mus musculus domesticus

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00125	20	70,0	1,0969	5,524	5,58	5,523	0,558	11,160	12,241	61,637
0,00090	29	62,1	0,9542	5,308	5,31	5,308	0,616	17,864	17,046	94,822
0,00045	30	40,0	0,6532	4,747	4,78	4,747	0,627	18,810	12,287	89,291
$0,00022_5$	31	22,6	0,3522	4,248	4,24	4,249	0,503	15,593	5,492	66,255
	110							63,427	47,066	312,005

1.) $\bar{x} = \frac{47,066}{63,427} = 0,742$ $\qquad \bar{y} = \frac{312,005}{63,427} = 4,9191$

2.) $Snwx^2 = 39,752$ $\qquad Snwy^2 = 1\,549,153$ $\qquad Snwxy = 239,748$

3.) Wert b: $b = \frac{239,748 - (0,742 \times 312,005)}{39,752 - (0,742 \times 47,066)} = \frac{8,240}{4,829} = 1,7063$

4.) Regressionsgerade y: $y = (4,9191 - 1,7063 \times 0,742) + bx = 3,653 + 1,7063 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (1\,549,153 - 4,9191 \times 312,005) - \frac{(8,240)^2}{4,829} = 0,309$

$\chi_2^2 = 0,309$ $\qquad f = 2$ $\qquad \alpha_2 = 85\%$

6.) $Y_{5,58} = 5,52\ (-0,06)$ $\quad m_{(LD_{50})} = 0,79$

$Y_{5,31} = 5,28\ (-0,03)$ $\quad LD_{50} = \text{num}\ (0,79 - 4) = 0,00062\%$

$Y_{4,78} = 4,77\ (-0,01)$

$Y_{4,24} = 4,25\ (+0,01)$ $\quad m_{(LD_{90})} = 1,545$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,545 - 4) = 0,00351\%$

7.) LD_{50}: $m = \frac{5,0000 - 4,9191}{1,7063} + 0,742 = 0,0474 + 0,742$

$= 0,7894$

$LD_{50} = \text{num}\ (0,7894 - 4) = 0,00062\%$

8.) Mittlere Abweichung der LD_{50}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,7063^2}\left(\frac{1}{63,427} + \frac{(0,0474)^2}{4,829}\right) = 0,005393$$

$$s_m = \sqrt{0,005393} = 0,07343$$

9.) Vertrauensgrenzen der LD_{50}:

$0,7894 \pm 1,96 \times 0,007343 = 0,7894 \pm 0,1439$

Grenzen: 0,6455 und 0,9333 $\hat{=}$ 0,00044% bis 0,00086%

10.) LD_{90}: $m = \frac{6,2800 - 4,9191}{1,7063} + 0,742 = 0,7975 + 0,742$

$= 1,5395$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,5395 - 4) = 0,00346\%$

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,7063^2}\left(\frac{1}{63,427} + \frac{(0,7975)^2}{4,829}\right) = 0,050632$$

$$s_m = \sqrt{0,050632} = 0,225$$

12.) Vertrauensgrenzen der LD_{90}:

$1,5395 \pm 1,96 \times 0,225 = 1,5395 \pm 0,341$

Grenzen: 1,1985 und 1,8805 $\hat{=}$ 0,00158% bis 0,00759%

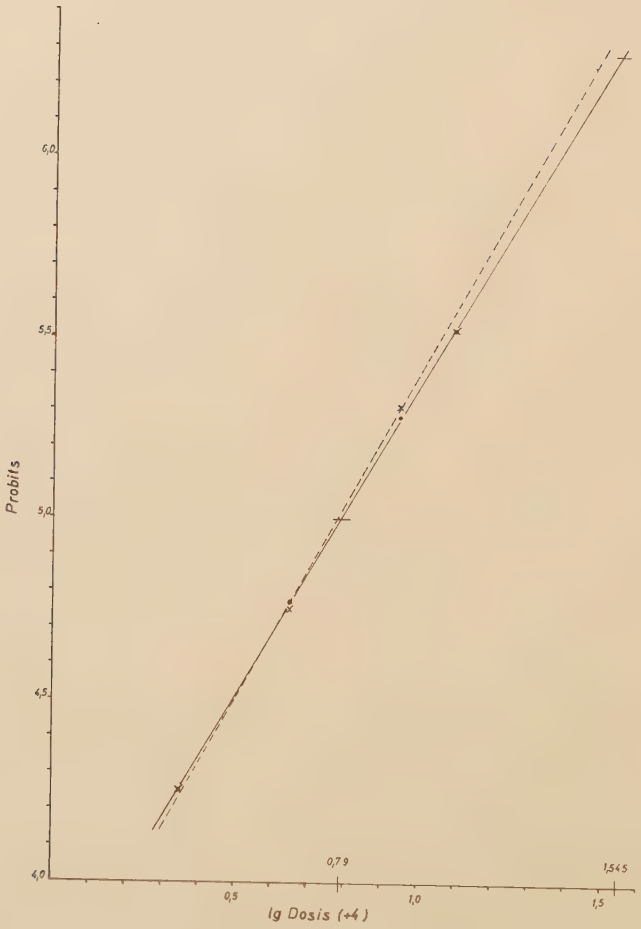


Abb. 3: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 3
(Mus musculus domesticus Weibchen)

Tabelle 4: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Männchen von Mus musculus domesticus

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00125	13	76,9	1,0969	5,736	5,71	5,735	0,532	6,916	7,586	39,663
0,00090	20	70,0	0,9542	5,524	5,49	5,524	0,581	11,620	11,088	64,189
0,00060	7	57,1	0,7782	5,179	5,23	5,179	0,627	4,389	3,416	22,731
0,00045	14	50,0	0,6532	5,000	5,05	5,000	0,637	8,918	5,825	44,590
$0,00022_5$	20	35,0	0,3522	4,615	4,60	4,615	0,601	12,020	4,233	55,474
	74							43,863	32,148	226,647

1.) $\bar{x} = \frac{32,148}{43,863} = 0,7329$ $\qquad \bar{y} = \frac{226,647}{43,863} = 5,1671$

2.) $Snwx^2 = 26,855$ $\qquad Snwy^2 = 1\,178,734$ $\qquad Snwxy = 171,107$

3.) Wert b: $b = \frac{171,107 - (0,7329 \times 226,647)}{26,855 - (0,7329 \times 32,148)} = \frac{4,998}{3,294} = 1,5173$

4.) Regressionsgerade y: $y = (5,1671 - 0,7329 \times 1,5173) + bx = 4,0551 + 1,5173 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (1\,178,734 - 5,1671 \times 226,647) - \frac{(4,998)^2}{3,294} = 0,043$

$\chi^2_3 = 0,043$ $\qquad f = 3$ $\qquad \alpha_3 = 99\%$

6.) $Y_{5,71} = 5,72\ (+0,01)$ $\quad m_{(LD_{50})} = 0,62$

$Y_{5,49} = 5,50\ (+0,01)$

$Y_{5,23} = 5,23\ (\pm 0,00)$ $\quad LD_{50} = \text{num}\ (0,62\ -4) = 0,00042\%$

$Y_{5,05} = 5,05\ (\pm 0,00)$ $\quad m_{(LD_{90})} = 1,47$

$Y_{4,60} = 4,59\ (-0,01)$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,47\ -4) = 0,00295\%$

7.) LD_{50}: $m = \frac{5,0000 - 5,1671}{1,5171} + 0,7329 = -0,1103 + 0,7329$

$= 0,6226$

$LD_{50} = \text{num}\ (0,6226\ -4) = 0,00042\%$

8.) Mittlere Abweichung der LD_{50}:

$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,5171^2}\left(\frac{1}{43,863} + \frac{(-0,1103)^2}{3,294}\right) = 0,01147$

$s_m = \sqrt{0,01147} = 0,1071$

9.) Vertrauensgrenzen der LD_{50}:

$0,6226 \pm 1,96 \times 0,1071 = 0,6226 \pm 0,2099$

Grenzen: 0,4127 und 0,8325 $\triangleq$ 0,00026% bis 0,00068%

10.) LD_{90}: $m = \frac{6,2800 - 5,1671}{1,5171} + 0,7329 = 0,7335 + 0,7329$

$= 1,4664$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,4664\ -4) = 0,00293\%$

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$MQ_{(m)} = \frac{1}{1,5171^2}\left(\frac{1}{43,863} + \frac{(0,7335)^2}{3,294}\right) = 0,08086$

$s_m = \sqrt{0,08086} = 0,2844$

12.) Vertrauensgrenzen der LD_{90}:

$1,4664 \pm 1,96 \times 0,2844 = 1,4664 \pm 0,5574$

Grenzen: 0,9090 und 2,0238 $\triangleq$ 0,00081% bis 0,01056%

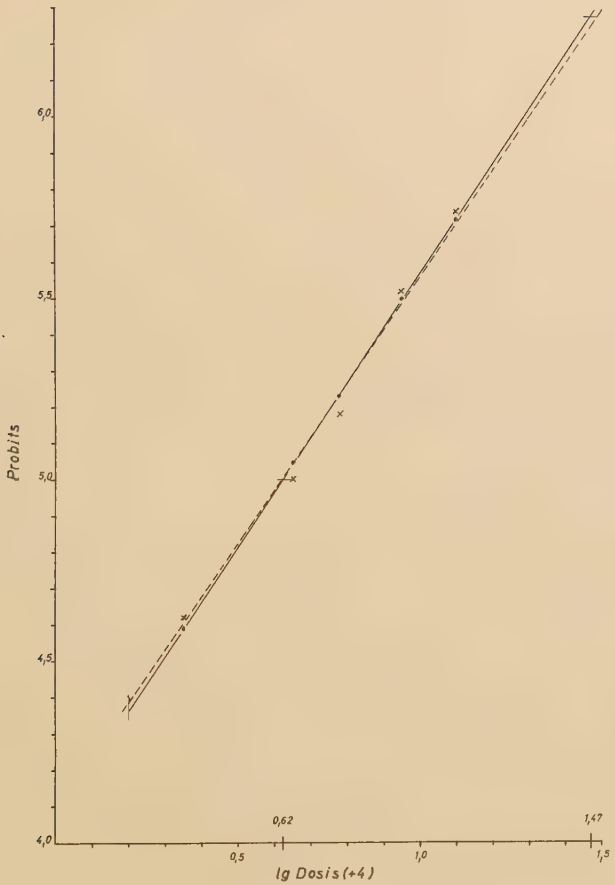


Abb. 4: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 4
(Mus musculus domesticus Männchen)

Tabelle 5: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Weibchen von SW

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00125	24	83,3	1,0969	5,966	6,13	5,956	0,405	9,720	10,662	57,892
0,00090	160	80,6	0,9542	5,863	5,74	5,854	0,532	85,120	81,221	498,292
0,00060	43	53,5	0,7782	5,088	5,28	5,083	0,616	26,488	20,613	134,638
0,00045	46	41,3	0,6532	4,780	4,94	4,781	0,634	29,164	19,050	139,433
0,00032	35	37,1	0,5051	4,671	4,54	4,677	0,581	20,335	10,271	95,107
	308							170,827	141,817	925,362

1.) $\bar{x} = \frac{141,817}{170,827} = 0,8302$ $\qquad \bar{y} = \frac{925,362}{170,827} = 5,4169$

2.) $Snwx^2 = 122,868$ $\qquad Snwy^2 = 5\,057,615$ $\qquad Snwxy = 782,862$

3.) Wert b: $b = \frac{782,862 - (0,8302 \times 925,362)}{122,868 - (0,8302 \times 141,817)} = \frac{14,627}{5,132} = 2,85$

4.) Regressionsgerade y: $y = (5,4169 - 2,85 \times 0,8302) + bx = 3,0508 + 2,85 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (5\,057,615 - 5,4169 \times 925,362) - \frac{(14,627)^2}{5,132} = 3,335$

$\chi^2_3 = 3,335$ $\qquad f = 3$ $\qquad \alpha_3 = 40\%$

6.) $Y_{6,13} = 6,17\ (+0,04)$ $\quad m_{(LD_{50})} = 0,68$

$Y_{5,74} = 5,77\ (+0,03)$

$Y_{5,28} = 5,27\ (-0,01)$ $\quad LD_{50} = \text{num}\ (0,68\ -4) = 0,00048\%$

$Y_{4,94} = 4,91\ (-0,03)$ $\quad m_{(LD_{90})} = 1,14$

$Y_{4,54} = 4,49\ (-0,05)$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,14\ -4) = 0,00138\%$

7.) LD_{50}: $m = \frac{5,0000 - 5,4169}{2,85} + 0,8302 = -0,1463 + 0,8302$

$= 0,6839$

$LD_{50} = \text{num}\ (0,6839\ -4) = 0,00048\%$

8.) Mittlere Abweichung der LD_{50}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{2,85^2}\left(\frac{1}{170,827} + \frac{(-0,1463)^2}{5,132}\right) = 0,001219$$

$$s_m = \sqrt{0,001219} = 0,03491$$

9.) Vertrauensgrenzen der LD_{50}:

$0,6839 \pm 1,96 \times 0,03491 = 0,6839 \pm 0,0684$

Grenzen: 0,6155 und 0,7523 $\hat{=}$ 0,00041% bis 0,00056%

10.) LD_{90}: $m = \frac{6,2800 - 5,4169}{2,85} + 0,8302 = 0,3028 + 0,8302$

$= 1,133$

$LD_{90} = \text{num}\ (1,133\ -4) = 0,00136\%$

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{2,85^2}\left(\frac{1}{170,827} + \frac{(0,3028)^2}{5,132}\right) = 0,022712$$

$$s_m = \sqrt{0,022712} = 0,1507$$

12.) Vertrauensgrenzen der LD_{90}:

$1,133 \pm 1,96 \times 0,1507 = 1,133 \pm 0,2954$

Grenzen: 0,8376 und 1,4284 $\hat{=}$ 0,00069% bis 0,00268%

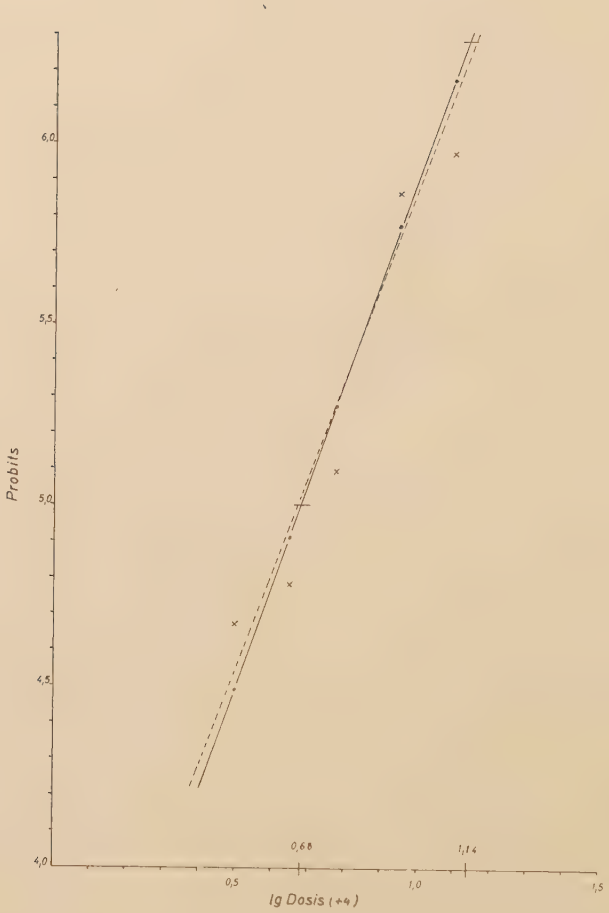


Abb. 5: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 5 (SW Weibchen)

Tabelle 6: Berechnung der LD_{50} und LD_{90} für die Männchen von SW

Konzentr. in %	Anzahl d.Tiere	Mort. in %	log Konz. (+4)	Empirische Probits	Erwartete Probits	Arbeits-probits	Gewichts-koeff.	Gewicht		
	n		x		Y	y	w	nw	nwx	nwy
0,00090	27	92,6	0,9542	6,447	6,06	6,383	0,405	10,935	10,434	69,798
0,00060	37	75,7	0,7782	5,697	5,71	5,697	0,532	19,684	15,318	112,139
0,00050	29	65,5	0,6990	5,399	5,54	5,396	0,581	16,849	11,777	90,917
0,00045	198	65,6	0,6532	5,402	5,44	5,402	0,601	118,998	77,729	642,827
0,00032	51	62,8	0,5051	5,327	5,13	5,322	0,634	32,334	16,332	172,082
$0,00022_5$	28	32,1	0,3522	4,535	4,82	4,545	0,627	17,556	6,183	79,792
	370							216,356	137,773	1167,555

1.) $\bar{x} = \frac{137,773}{216,356} = 0,6368$ $\qquad \bar{y} = \frac{1\ 167,555}{216,356} = 5,3964$

2.) $Snwx^2 = 91,308$ $\qquad Snwy^2 = 6\ 325,991$ $\qquad Snwxy = 752,329$

3.) Wert b: $b = \frac{752,329 - (0,6368 \times 1\ 167,555)}{91,308 - (0,6368 \times 137,773)} = \frac{8,830}{3,574} = 2,465$

4.) Regressionsgerade y: $y = (5,3964 - 2,465 \times 0,6368) + bx = 3,8267 + 2,465 \cdot x$

5.) χ^2-Test: $\chi^2 = (6\ 325,991 - 5,3964 \times 1\ 167,555) - \frac{(8,830)^2}{3,574} = 3,631$

$\chi_4^2 = 3,631$ $\qquad f = 4$ $\qquad \alpha_4 = 50\%$

6.) $Y_{6,06} = 6,17\ (+0,11)$ $\quad m_{(LD_{50})} = 0,475$

$Y_{5,71} = 5,74\ (+0,03)$

$Y_{5,54} = 5,55\ (+0,01)$ $\quad LD_{50} = \text{num}\ (0,475\ \bar{4}) = 0,00029\%$

$Y_{5,44} = 5,44\ (\pm 0,00)$ $\quad m_{(LD_{90})} = 0,995$

$Y_{5,13} = 5,07\ (-0,06)$

$Y_{4,82} = 4,69\ (-0,13)$ $\quad LD_{90} = \text{num}\ (0,995\ \bar{4}) = 0,00989\%$

7.) LD_{50}: $m = \frac{5,1000}{2,465} - \frac{5,2964}{} + 0,6368 = -0,1608 + 0,6368$

$= 0,476$

$LD_{50} = \text{num}\ (0,476\ \bar{4}) = 0,00030\%$

8.) Mittlere Abweichung der LD_{50}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{2,465^2}\left(\frac{1}{216,356} + \frac{(-0,1608)^2}{3,574}\right) = 0,001941$$

$$s_m = \sqrt{0,001941} = 0,04406$$

9.) Vertrauensgrenzen der LD_{50}:

$0,7460 \pm 1,96 \times 0,04406 = 0,4760 \pm 0,0864$

Grenzen: 0,3896 und 0,5624 $\hat{=}$ 0,00024% bis 0,00036%

10.) LD_{90}: $m = \frac{6,2800}{2,465} - \frac{5,2964}{} + 0,6368 = 0,3585 + 0,6368$

$= 0,9953$

$LD_{90} = \text{num}\ (0,9953\ \bar{4}) = 0,00099\%$

11.) Mittlere Abweichung der LD_{90}:

$$MQ_{(m)} = \frac{1}{2,465^2}\left(\frac{1}{216,356} + \frac{(0,3585)^2}{3,574}\right) = 0,006662$$

$$s_m = \sqrt{0,006662} = 0,08162$$

12.) Vertrauensgrenzender LD_{90}:

$0,9953 \pm 1,96 \times 0,08162 = 0,9953 \pm 0,1599$

Grenzen: 0,8354 und 1,1552 $\hat{=}$ 0,00068% bis 0,00143%

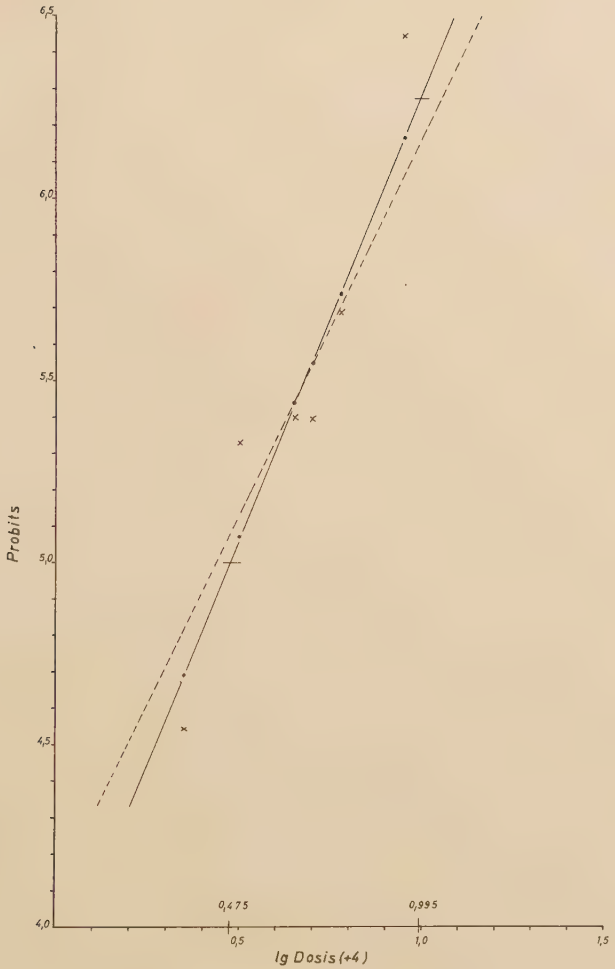


Abb. 6: Probit-Regressionslinien zu Tabelle 6 (SW Männchen)

In Tabelle 7 sind die ermittelten LD_{50}- und LD_{90}-Werte noch einmal im Zusammenhang und im Vergleich zueinander aufgeführt.

Tabelle 7: Gegenüberstellung der LD_{50} und der LD_{90} (Konzentration in %)

Stamm	LD_{50}		LD_{90}	
	Weibchen	Männchen	Weibchen	Männchen
Mus musculus domesticus	0,00062	0,00042	0,00346	0,00293
NMRI	0,00058	0,00042	0,00297	0,00192
SW	0,00048	0,00030	0,00136	0,00099

Die in dieser Tabelle angegebenen LD_{50}- und LD_{90}-Werte für die Männchen und die Weibchen sind in der Reihenfolge des Empfindlichkeitsanstieges, der den 3 Stämmen in dieser Hinsicht zukommt, aufgeführt.

Dabei hat sich gezeigt, daß sich die Unterart Mus musculus domesticus am wenigsten empfindlich und der SW-Stamm am empfindlichsten erweist; der NMRI-Stamm liegt in seiner Empfindlichkeit gegen Cumarin zwischen den beiden anderen Teststämmen. Die Gegenüberstellung der LD_{50} von M.m. domesticus und der der NMRI-Tiere ergab nur sehr geringfügige Abweichungen, wohingegen sich die LD_{50} des SW-Stammes deutlich von denen der beiden vorher genannten Stämme unterscheidet. Die Werte der LD_{90} zeigen dagegen bei allen drei Stämmen größere Unterschiede.

In allen sechs Fällen hat sich mit Hilfe einer fehlerstatistischen Auswertung nach dem χ^2-Verfahren Homogenität ergeben, d.h. die Anpassung der Geraden an die Beobachtungswerte ist gut bis sehr gut. Den gewonnenen Werten der LD_{50} und LD_{90} kann somit eine 95%ige Genauigkeit zugesprochen werden.

Obwohl für die Regressionsgeraden der Männchen und Weibchen jeweils gleiche Steilheit bzw. Parallelität (durch gleiche Toleranzvarianzen bedingt) zu erwarten ist, so haben sich doch geringfügige Verschiebungen im Anstieg der Linien erge-

ben. Der Grad der Abweichung von der Parallelität ist sicher nicht in der biologischen Natur des angewandten Präparates oder der Versuchstiere begründet, sondern eher von den unterschiedlichen Streuungsbreiten der einzelnen Mortalitätswerte bei den verschiedenen Konzentrationen abhängig. Eine größere Genauigkeit war wegen der teilweise relativ kleinen Zahl n, die besonders beim Wildstamm nicht vergrößert werden konnte, nicht zu erreichen. Bei einer genügend großen Anzahl von Versuchstieren ist mit Bestimmtheit auch in diesem Falle eine Gleichheit im Anstieg der Regressionsgeraden zu erwarten, und dann ist es möglich, einen direkten Vergleich der Regressionslinien und der daraus gewonnenen LD_{50}- und LD_{90}- Werte vorzunehmen.

Um die Werte der LD_{50} bzw. LD_{90} besser beurteilen zu können, sind in der folgenden Tabelle 8 die täglich aufgenommenen Dosen dargestellt, bei denen nach der angegebenen Versuchsanordnung 50% bzw. 90% der behandelten Tiere absterben. Diese Tagesdosen entsprechen den Werten der LD_{50} bzw. LD_{90} in der Tabelle 7.

Tabelle 8: Mittelwerte $\bar{x}$ der täglich aufgenommenen Giftmengen (mg/kg Maus), bei denen 50% bzw. 90% der Versuchstiere absterben.

Stamm	Mortalität von 50%		Mortalität von 90%	
	Weibchen	Männchen	Weibchen	Männchen
Mus musculus domesticus	0,82	0,56	4,61	3,91
NMRI	0,78	0,56	3,96	2,56
SW	0,64	0,40	1,81	1,13

c. Fütterungsdauer und Überlebenszeit [1] der Versuchstiere

Bei der Berechnung der durchschnittlichen Fütterungsdauer (in Tagen) wurde nur die Anzahl der Tage berücksichtigt, an

1) Überlebenszeit: Zeit von der ersten Giftapplikation bis zum Tode (in Tagen)

denen das Semmelmehl-Giftgemisch restlos bzw. fast restlos aufgefressen worden ist. In den allermeisten Fällen waren die Tiere in der Lage, bis zum unmittelbaren Einsetzen der toxischen Wirkung das Giftgemisch aufzunehmen. Sobald die den Effekt auslösende Actosinmenge erreicht wurde, kam es nur noch selten zu einer Futteraufnahme. Hin und wieder gelang es den akut geschädigten Mäusen, noch einen geringen Teil des Giftgemisches zu fressen, der aber sicher nicht mehr in entscheidendem Maße zur Anreicherung des Giftes beitrug. Es ist wohl eher anzunehmen, daß bereits vorher nach maximaler Kumulation der den Effekt auslösende Actosinspiegel erreicht wurde. Die Anzahl der Tage, an denen nach dem vorübergehenden Aussetzen wieder eine Giftgemischaufnahme erfolgte, ging in die Berechnung der durchschnittlichen Fütterungsdauer ebenfalls mit ein.

In entsprechender Weise wurde die Überlebenszeit (in Tagen) der Versuchstiere berechnet.

Im großen und ganzen zeigten alle drei Stämme einen Anstieg der Fütterungsdauer mit fallender Dosis; bei der Berechnung der Überlebenszeit konnte die gleiche Tendenz beobachtet werden. Bei der Gegenüberstellung der Werte der Fütterungsdauer mit der Überlebenszeit bei gleicher Konzentration zeigte sich, daß die Weibchen aller drei Stämme bis auf einige Ausnahmen jeweils höhere Werte aufwiesen als die Männchen.

Aus Tabelle 9 ist ersichtlich, daß beim MRI-Stamm nach einem kontinuierlichen Anstieg der Werte bei fallender Konzentration wieder ein leichter Abfall bei der niedrigsten Konzentration festzustellen ist.

Bei den Männchen und Weibchen der Wildtiere liegen die durchschnittlichen Werte der hohen Konzentration für die Fütterungsdauer und die Überlebenszeit relativ hoch. Der Grund ist sicher in der Tatsache zu suchen, daß die behandelten Tiere das hochkonzentrierte Giftgemisch nicht vollständig fraßen, so daß effektiv nur ein Teil der für die jeweilige Konzentration zu veranschlagende Gesamtwert der Giftmenge zur Wirkung kam.

Tabelle 9: Gegenüberstellung der Durchschnittswerte der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit (in Tagen) für die Männchen und die Weibchen

Konzentration in %	Männchen			Weibchen		
	n	Fütterungsdauer	Überlebenszeit	n	Fütterungsdauer	Überlebenszeit
	Mus musculus domesticus					
0,001250	10	6,1	8,3	14	5,1	8,1
0,000900	14	4,7	6,4	18	5,3	7,0
0,000600	4	6,0	6,8	--	--	--
0,000450	7	6,3	7,4	12	6,2	7,1
0,000225	7	7,0	8,3	7	8,0	8,7
	NMRI					
0,002500	134	4,6	6,4	126	5,2	6,9
0,001250	88	4,7	6,5	81	5,5	6,5
0,000900	34	5,6	7,3	158	5,5	7,1
0,000600	16	6,0	7,4	22	6,7	8,3
0,000450	114	6,1	8,0	17	6,2	7,9
0,000320	13	6,6	8,8	12	5,9	7,7
0,000225	10	6,0	7,5	--	--	--
	SW					
0,001250	--	--	--	19	5,1	6,5
0,000900	25	5,2	6,4	129	5,3	6,7
0,000600	28	5,6	7,3	23	5,9	7,0
0,000500	19	5,3	7,0	--	--	--
0,000450	130	5,7	7,1	19	7,5	9,7
0,000320	32	6,1	7,6	13	6,5	8,5
0,000225	9	6,1	7,0	--	--	--

d. Tägliche Dosen und Gesamtdosen bei den getöteten Versuchstieren

Um die Verhältnisse der tatsächlich aufgenommenen Giftmenge im einzelnen wiederzugeben, wurden in der folgenden Tabelle 10 die täglichen Dosen und die Gesamtdosen für die getöteten Tiere zusammengestellt. Um ein Bild von der Größenordnung der

aufgenommenen Giftmenge zu geben, sind die effektiv von den Versuchstieren aufgenommenen Dosen im Vergleich mit der durch die Versuchsanordnung definierten theoretisch möglichen Tagesdosen für die abgestorbenen Tiere in der Tabelle dargestellt. Die Anzahl der getesteten Versuchstiere ist aus Tabelle 9 zu entnehmen. Die jeweils in der oberen Reihe der Tabelle 10 aufgeführten empirischen Werte, denen in Spalte 2 die theoretisch möglichen Tagesdosen (mg/kg Maus) gegenübergestellt worden sind, lassen erkennen, daß besonders bei den höheren Konzentrationen Unterschiede zwischen den empirischen und theoretischen Werten ermittelt wurden. Mit fallender Konzentration passen sich jedoch die Testwerte immer mehr den Werten der jeweiligen theoretischen Tagesdosis an. In der unteren Reihe ist die insgesamt aufgenommene Giftmenge der abgestorbenen Versuchstiere dargestellt, die sich als Produkt aus der aufgenommenen Tagesdosis und der Anzahl der Tage (s. Tabelle 9), an denen das Futter-Giftgemisch gefressen wurde, berechnet. Aus diesen Werten ist zu entnehmen, daß die aufgenommene Gesamtgiftmenge der Weibchen in den meisten Fällen größer ist als die vergleichbare Giftmenge der Männchen.

Tabelle 10: Tägliche Dosis der getöteten Tiere (obere Reihe) und aufgenommene Gesamtdosis der getöteten Tiere (untere Reihe) in mg/kg Maus

Dargebotene Dosis in %	Theoretisch mögliche Tagesdosis	Mus musculus domesticus		NMRI		SW	
		M	W	M	W	M	W
0,002500	3,33	--	--	3,31	3,33	--	--
		--	--	15,23	17,32	--	--
0,001250	1,67	1,49	1,46	1,65	1,65	--	1,65
		9,09	7,45	7,76	9,08	--	8,42
0,000900	1,20	1,13	1,11	1,20	1,19	1,19	1,19
		5,31	5,88	6,72	6,55	6,19	6,31
0,000600	0,80	0,80	--	0,79	0,80	0,79	0,79
		4,80	--	4,74	5,36	4,42	4,66
0,000500	0,67	--	--	--	--	0,66	--
		--	--	--	--	3,50	--
0,000450	0,60	0,58	0,60	0,58	0,60	0,59	0,59
		3,65	3,72	3,54	3,72	3,36	4,43
0,000320	0,43	--	--	0,42	0,43	0,43	0,43
		--	--	2,77	2,54	2,62	2,80
0,000225	0,30	0,30	0,30	0,29	--	0,29	--
		2,10	2,40	1,74	--	1,77	--

2. Selektionsversuche mit dem Mäusestamm NMRI

a. Selektionsreihe 1 bei einer Konzentration von 0,00250%

I. Darstellung des Selektionsverlaufes mit fehlerstatistischer Auswertung

Männliche und weibliche Tiere des genetisch heterogenen Stammes NMRI wurden bei einer Giftkonzentration von 0,00250% der Selektion unterworfen.

Die Begiftung der Versuchstiere erfolgte in täglichen Abständen bei einer Maximaldauer von 10 Tagen und täglichen Futter-Giftgemisch-Gaben von 2g/15g Maus. Die nach diesem Zeitpunkt überlebenden Tiere wurden als ausreichend resistent gegenüber dieser Konzentration angesehen und für die Fortsetzung der Selektion verwendet. In den Versuchen wurde der Grad der Giftempfindlichkeit der Normaltiere, also der Kontrollen, als Maßstab gewählt und diejenigen Generationen als resistent bezeichnet, die eine signifikante positive Differenz in Richtung auf höhere Überlebensraten zum Kontrollstamm aufwiesen.

Die Anzahl der getesteten Mäuse betrug in den ersten Generationen durchschnittlich 30, erreichte aber in den letzten drei Generationen durchschnittlich 70 - 80. Insgesamt wurden in dieser Reihe 9 Generationen der Selektion unterworfen, wobei die Anzahl der insgesamt getesteten Tiere für die Männchen 398 gegenüber 152 Kontrolltieren und für die Weibchen 403 gegenüber 151 Kontrolltieren betrug.

Während der ganzen Zeit der Untersuchungen wurden gleichaltrige, jedoch nicht selektionierte Kontrolltiere der gleichen Behandlungsart unterworfen, die in den folgenden Tabellen und Abbildungen als "K" bezeichnet werden. Die einzelnen Prozentwerte der Überlebenden des Kontrollstammes wurden zu einem Gesamtwert zusammengefaßt, da die Testwerte der 9 Generationen nur geringe Differenzen aufwiesen. Die Prüfung der Kontrollen auf Homogenität ergab mit Hilfe des χ^2-Verfahrens Homogenität (Männchen: $\chi^2_1 = 2{,}99$, $P = 0{,}88$; Weibchen: $\chi^2_1 = 1{,}71$, $P = 0{,}2$), so daß eine Mittelwertbildung als korrekt bezeichnet werden kann.

Die Selektionsreihe erhielt in den Tabellen und Abbildungen die Bezeichnung "S 1".

Die Begiftung der Selektionstiere und der Kontrollen erfolgte bei einem Lebensalter von 7 Wochen; in den beiden ersten Generationen waren einzelne Tiere noch etwas älter, jedoch höchstens 9 Wochen.

In der P-Generation wurden aus arbeitstechnischen Gründen nicht nur überlebende Männchen und Weibchen der Konzentration von 0,00250% verpaart, sondern auch drei überlebende Weibchen und ein überlebendes Männchen, die aus einem Vorversuch bei der Konzentration von 0,00500% als Resistente gewonnen wurden. Im weiteren Verlaufe der Selektion erfolgte die Begiftung ausnahmslos bei der Giftkonzentration von 0,00250%.

Die sich zwischen dem Selektionsstamm und den Kontrolltieren bei gleicher Untersuchungsmethode ergebenden Differenzen in den Überlebensraten sind in der Tabelle 11 mit einer fehlerstatistischen Auswertung als "D" eingetragen. Daraus kann innerhalb der gesamten Selektionslinie der Resistenzanstieg abgelesen werden. Die ermittelten Differenzen sind in Abbildung 7 für Männchen und Weibchen graphisch dargestellt. Der als D angegebene Wert ergibt sich aus $\frac{S1 - K}{100}$ und der in der Tabelle zu findende Wert s_D berechnet sich aus

$$\sqrt{\frac{p_1 (100 - p_1)}{n_1} + \frac{p_2 (100 - p_2)}{n_2}}$$

Die unterbrochenen Linien nach der F_2, die in der Tabelle 11 zu finden sind, zeigen an, daß nach dieser Generation die Selektion abgebrochen werden mußte. Die Fortführung der Selektion nach der F_2 war deshalb nicht möglich, weil von den resistenten Weibchen keine lebensfähigen Nachkommen aufgezogen werden konnten. Die Ursache für das Absterben der gesamten Jungtiere kann nur durch qualitativ unzureichende Ernährung erklärt werden. Sie ist aller Wahrscheinlichkeit nach in erster Linie in einer ungenügenden Fütterung begründet, weniger durch den Einfluß des Cumarin auf die Elterntiere und damit auf ihre Nachkommen. Die Annahme, daß mangelhafte Er-

Tabelle 11: Resistentanstieg nach Selektion bei Cumarinbegiftung (0,00250%). Vergleich der Überlebensraten 7 Wochen alter NMRI-Mäuse von S1 und K

Generation	Getestete Weibchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Weibchen		D	s_D	$D/s_D=t$
	S1	K	S1	K			
P	30		7/23.3		--	--	--
F_1	32		9/28.1		0,115	0,0756	1,521
F_2	15		4/26.7		0,101	0,1026	0,984
P	27		6/22.2		--	--	--
F_1	32		9/28.1		0,115	0,0756	1,521
F_2	30	151	10/33.3	25/16.6	0,167	0,0788	2,119
F_3	30		13/43.3		0,267	0,0814	3,280
F_4	60		31/51.7		0,351	0,0673	5,216
F_5	84		50/59.5		0,429	0,0634	6,766
F_6	63		34/53.9		0,373	0,0670	5,567
	Getestete Männchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Männchen				
	S1	K	S1	K			
P	20		2/10.0		--	--	--
F_1	26		5/19.2		0,126	0,0591	2,132
$F_2=P$	13		2/15.4		0,088	0,0752	1,170
F_1	26		6/23.1		0,165	0,0608	2,714
F_2	40	152	10/25.0	10/6.6	0,184	0,0543	3,388
F_3	38		12/31.6		0,250	0,0581	4,303
F_4	74		25/33.8		0,272	0,0513	5,302
F_5	80		33/41.3		0,347	0,0542	6,402
F_6	81		34/41.9		0,353	0,0538	6,561

nährung für das Absterben der Jungtiere verantwortlich ist, wird durch die Beobachtung gerechtfertigt, daß nach dem Absetzen der am Anfang verfütterten Körnermischung und nach Umstellung der Fütterung auf Pellets die Absterberaten der Jungtiere sich in normalen Grenzen bewegten.

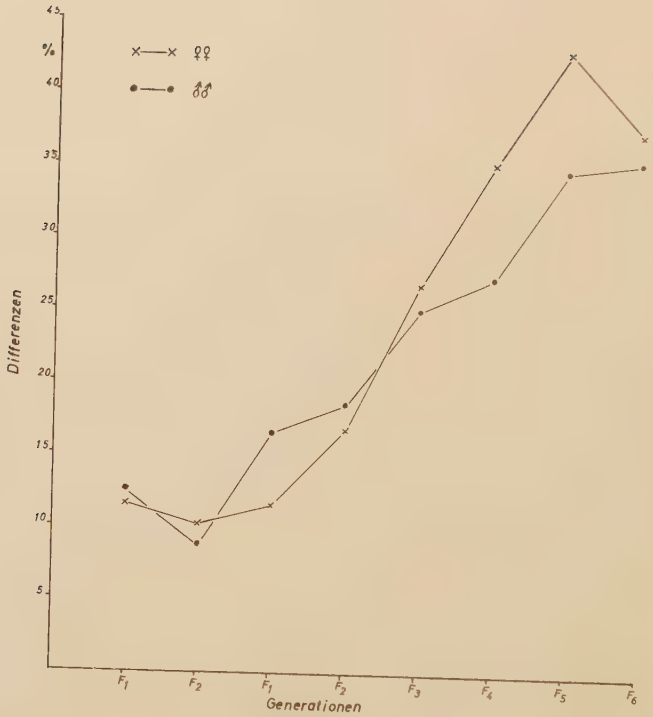


Abb. 7: Differenzen der Überlebensraten der 1. Selektionsreihe und der Kontrollen nach Cumarinbegiftung (0,00250%)

Aus den oben angeführten Gründen war es notwendig geworden, eine neue Selektionslinie aufzubauen. Zu diesem Zwecke wurden neue, noch nicht dem Gift ausgesetzte Weibchen der Selektion unterworfen und die Überlebenden mit den resistenten Männchen der F_2 verpaart. Die Verpaarung dieser beiden im Resistenzgrad sicher unterschiedlichen Gruppen erfolgte deshalb, um eventuell bereits vorhandene Resistenzfaktoren der Männchen zu erhalten und sie in den Genbestand der neuen Linie zu bringen. Die überlebenden Weibchen der erneut getesteten Gruppe wurden wiederum als P-Generation bezeichnet, und die resistenten Männchen der F_2 gingen gleichzeitig als P-Tiere für die weitere Selektion in die Tabelle ein. Die folgenden Generationen wurden, wiederum mit der F_1 beginnend, in gleicher Weise durchnumeriert, so daß ein Vergleich der entsprechenden Generationen vorgenommen werden kann. Die nach dem Abbruch der ursprünglichen Selektion neu begonnene Selektionsreihe wird im folgenden als 2. Gruppe der Selektionsreihe 1 bezeichnet.

Die Aufzucht der Jungtiere in der 2. Gruppe verlief ohne nennenswerte Schwierigkeiten, da die Fütterung zu diesem Zeitpunkt bereits auf Pellets umgestellt war.

Wenn es sich aufgrund des geringen Tiermaterials aus dem 1. Wurf als notwendig erwies, wurden für die Begiftung nicht nur Nachkommen des 1. Wurfes verwendet, sondern auch Jungtiere aus den weiteren Würfen. Auf eine nach Würfen getrennte Protokollierung wurde verzichtet, da Unterschiede in der Empfindlichkeit der Nachkommen aus den verschiedenen Würfen nicht angenommen zu werden brauchen.

In Abb. 7 ist der Differenzbetrag zwischen den selektionierten Versuchstieren und den Kontrolltieren für beide Geschlechter graphisch wiedergegeben. Aus dieser graphischen Darstellung ist ersichtlich, daß besonders im oberen Teil der Kurve die Werte für die Männchen niedriger liegen als die für die Weibchen, während im unteren Teil der Kurve unregelmäßige Schwankungen auftreten. Diese ungerichtet aufgetretenen Schwankungen im Verlaufe der Selektion können als Folge der verhältnismäßig niedrigen Individuenzahl in den ersten Generationen eingetreten sein. Zufallsschwankungen werden hierbei eine weit größere Rolle spielen als in den darauffolgenden Generationen,

in denen weit mehr Versuchstiere getestet worden sind.

Der für den Selektionsverlauf maßgebende Wert D und der daraus resultierende Quotient t aus D und s_D lassen erkennen, daß sich bei den Männchen bereits von der F_2 (2.Gruppe) ab statistisch gesicherte Differenzen zwischen dem Selektionsstamm und dem Kontrollstamm ergeben, während bei den Weibchen statistisch gesicherte Differenzen zwischen den selektionierten Tieren und den Kontrollen erst von der 3. Generation (2.Gruppe) ab festzustellen sind. Die fehlerkritische Beurteilung geht dabei von der Voraussetzung aus, daß Werte oberhalb t = 3,00 bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,01 (= 1%) signifikante Unterschiede ergeben.

Die für die Beurteilung der fehlerstatistischen Auswertung zugrundeliegenden D-Werte der einzelnen Generationen in der Tabelle 11 geben jedoch nur ein unvollkommenes Bild vom Resistenzanstieg der Selektionsreihe 1, da die sich daraus ergebenden Quotienten für die einzelnen Generationen unregelmäßige Schwankungen aufweisen. Eine bessere Übersicht des Resistenzverlaufes ergibt sich, wenn jeweils 2 Generationen des S1-Stammes zusammengefaßt und dem K-Stamm gegenübergestellt werden.

In der auf Seite 55 folgenden Tabelle 12 sind die Werte für die Weibchen und die Männchen mit einer fehlerstatistischen Betrachtung für jeweils 2 zusammengefaßte Generationen dargestellt. Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß auch in diesem Falle die t-Werte der Männchen bis zur F_3+F_4 der 2.Gruppe höher liegen als die vergleichbaren Werte der Weibchen, wenn auch die Unterschiede zwischen den Weibchen und den Männchen nicht mehr so groß sind wie beim Vergleich der entsprechenden Einzel-Generationen aus Tabelle 11. Der Vergleich der Generarationen F_5+F_6 zwischen den Männchen und den Weibchen läßt erkennen, daß die Werte der Weibchen hierbei etwas höher liegen als die der Männchen.

Eine weitere Erhärtung des festgestellten Resistenzanstieges der Selektionslinie liefert die Prüfung nach dem χ^2-Verfahren. Beim Vergleich des S1-Stammes und der Kontrollen kommt als Grundlage die Nullhypothese zur Anwendung, die die Annahme

Tabelle 12: Resistenzanstieg nach Selektion bei Cumarinbegiftung (0,00250%). Vergleich der Überlebensraten 7 Wochen alter NMRI-Mäuse von S1 und K für jeweils 2 Generationen

Generationen	Getestete Weibchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Weibchen		D	s_D	$D/s_D=t$
	S1	K	S1	K			
F_1+F_2	47		13/27.7		0,111	0,0658	1,684
F_1+F_2	62		19/30.7		0,141	0,0611	2,308
F_3+F_4	90	151	44/48.9	25/16.6	0,323	0,0601	5,374
F_5+F_6	147		84/57.2		0,406	0,0558	7,276
	Getestete Männchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Männchen				
	S1	K	S1	K			
F_1+F_2	39		7/17.9		0,113	0,0511	2,211
F_1+F_2	66		16/24.2		0,176	0,0478	3,682
F_3+F_4	112	152	37/33.0	10/6.6	0,264	0,0476	5,546
F_5+F_6	161		67/41.6		0,350	0,0487	7,187

voraussetzt, daß beide Beobachtungsreihen (S1 und K) Stichproben aus dem gleichen Grundmaterial sind und die Prozentzahlen sich nur zufällig voneinander unterschieden. Der Vergleich der beiden Häufigkeitszahlen kann nach diesem Verfahren ohne Bedenken erfolgen, da die hierfür notwendige Voraussetzung von $n = 5$ (nach Möglichkeit $n = 10$) in allen Fällen erfüllt ist. Für jedes aus dem Vergleich der beiden Häufigkeiten berechnete χ^2 ist weiterhin eine zugehörige Wahrscheinlichkeit P (probability) aus einer von PÄTAU veröffentlichten Tafel abzulesen. Der Wert P erlaubt die Aussage, ob die Differenz zwischen den beiden Häufigkeitszahlen zufallsbedingt oder statistisch gesichert ist, wobei P 0,0027 Signifikanz bedeutet und die Nullhypothese widerlegt. Die für die Beurteilung von χ^2 und P weiterhin maßgebende Anzahl der Freiheitsgrade errechnet sich aus der Anzahl der Freiheitsgrade aus beiden Versuchsreihen, denn in die Berechnung geht die Anzahl der getöteten und der

überlebenden Tiere des Selektionsstammes (2-1) sowie die Anzahl der getöteten und der überlebenden Individuen der Kontrollen (2-1) ein, wobei die Gesamt-Anzahl der Uberlebenden der insgesamt getesteten Tiere aus beiden Stämmen (S1 und K) gegenübergestellt werden. Die Anzahl der Freiheitsgrade lautet somit: $(2-1)\cdot(2-1) = 1\cdot1 = 1$.

Um für die Berechnung ein möglichst großes n zu erhalten, wurde auch für diesen Rechengang eine Zusammenfassung von jeweils 2 Generationen vorgenommen. In Tabelle 13 sind die errechneten χ^2-Werte mit den dazugehörigen P-Werten (bei einem Freiheitsgrad) für jeweils 2 zusammengefaßte Generationen von S1 dargestellt.

Tabelle 13: Prüfung auf Signifikanz nach dem χ^2-Verfahren für jeweils 2 Generationen der Selektionsreihe 1

Generationen	Männchen		Weibchen	
	χ^2_1	P	χ^2_1	P
F_1+F_2	4,835	0,03	2,857	0,09
F_1+F_2	13,709	0,0002	5,338	0,02
F_3+F_4	30,840	$<10^{-7}$	28,872	10^{-7}
F_5+F_6	51,703	$<10^{-10}$	52,887	$<10^{-10}$

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß bei den Männchen bereits von der F_1+F_2 (2.Gruppe) ab signifikante Unterschiede zwischen dem S1-Stamm und den Kontrollen festzustellen sind, während bei den Weibchen Signifikanz erstmalig von der F_3+F_4 (2.Gruppe) ab auftritt, wenn auch bereits von der F_1+F_2 (2.Gruppe) ab eine schwache signifikante Differenz zu verzeichnen ist. Die für die nächsten Generationen ermittelten χ^2- und P-Werte lassen in F_5+F_6 keinen eindeutigen Vorteil zugunsten eines der beiden Geschlechter erkennen.

Werden die Werte, die mit Hilfe des χ^2-Verfahrens gewonnen wurden, und die t-Werte aus der Tabelle 12 miteinander verglichen, so läßt sich eine Übereinstimmung in der Tendenz des Anstiegs der Werte feststellen, durch die in beiden Fällen der Resistenzanstieg der Selektionsreihe 1 charakterisiert ist.

Für die Generationen F_5+F_6 der 1.Selektionsreihe wurde der Selektionsvorteil für die Männchen und Weibchen berechnet. Er entspricht der Differenz "D" in Tabelle 12 und beträgt demnach für die Weibchen 0,406 und für die Männchen 0,350. Die daraus resultierende Vernichtungswahrscheinlichkeit (VW) des Kontrollstammes zur VW des Selektionsstammes S1 verhält sich somit wie 1000 : 594 für die Weibchen bzw. 1000 : 650 für die Männchen. Demnach ist also die Überlebenswahrscheinlichkeit der Weibchen des S1-Stammes bei Cumarin-Einwirkung 1,68 mal, die der Männchen dagegen nur 1,54 mal höher als die der Kontrolltiere. Aus diesen Zahlen ist zu entnehmen, daß die Weibchen des Selektionsstammes einen etwas höheren Resistenzgrad als die Männchen erreicht haben.

II. Vergleich der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere

Zur weiteren Charakterisierung des Selektionsverlaufes wurden für K und S1 gegenübergestellt: Die Anzahl der Fütterungstage und die Überlebenszeit der abgestorbenen Versuchstiere. In Tabelle 14 werden - für Männchen und Weibchen getrennt - die Werte für S1 und K miteinander verglichen. Dabei sind die Einzelwerte für K wieder zusammengefaßt, da sie nur geringfügig voneinander abweichen.

Für die Beurteilung eines möglichen Sensibilitätsverlustes des Selektionsstammes gegenüber den Kontrollen wurden die jeweiligen Differenzen (aus Tabelle 14) zwischen S1 und K für die Fütterungsdauer und die Überlebenszeit der abgestorbenen Versuchstiere für beide Geschlechter herangezogen, wobei die Werte der Selektionsreihe als Bezugspunkte festgelegt worden sind (Tabellen 15 und 16). Die Differenzbeträge der Überlebenszeit wurden nach dem t-Verfahren auf Homogenität geprüft.

Die P-Werte der Tabellen 15 und 16 lassen erkennen, daß sich hinsichtlich der Differenzbeträge zwischen S1 und K weitere Folgerungen über den Resistenzverlauf ableiten lassen. Beim Vergleich der P-Werte für die Weibchen und die Männchen ist festzustellen, daß im männlichen Geschlecht in fast allen Generationen starke Signifikanz bei den Differenzen der Über-

Tabelle 14: Vergleich der Durchschnittswerte der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit für die abgestorbenen Tiere beim Selektionsstamm 1 und den Kontrollen (in Tagen);
- Die Anzahl der Tiere jeweils in der Klammer -

Generation	Fütterungsdauer der abgestorbenen Weibchen		Überlebenszeit der Weibchen	
	S1	K	S1	K
F_1	5.8 (23)		6.9 (23)	
F_2	5,6 (11)		7.6 (11)	
P	5.3 (21)		7.0 (21)	
F_1	6.2 (23)		7.7 (23)	
F_2	5.5 (20)	5.2 (126)	6.6 (20)	6.8 (126)
F_3	5.5 (17)		6.5 (17)	
F_4	6.0 (29)		6.9 (29)	
F_5	5.6 (34)		7.7 (34)	
F_6	5.7 (29)		7.1 (29)	
	Fütterungsdauer der abgestorbenen Männchen		Überlebenszeit der Männchen	
	S1	K	S1	K
F_1	5.9 (21)		8.1 (21)	
F_2=P	5.8 (11)		8.0 (11)	
F_1	5.8 (20)		8.3 (20)	
F_2	5.3 (30)		6.9 (30)	
F_3	5.5 (26)	4.6 (142)	6.8 (26)	6.4 (142)
F_4	6.2 (49)		7.8 (49)	
F_5	5.5 (47)		7.4 (47)	
F_6	6.2 (47)		8.0 (47)	

lebenszeit herrscht, während im weiblichen Geschlecht nur in wenigen Fällen (F_1 und F_5 der 2.Gruppe) schwache Signifikanz zu verzeichnen ist. Es kann daher angenommen werden, daß zwischen dem Resistenzanstieg und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere eine reziproke Korrelation herrscht, denn es ist auffällig, daß dem höheren Resistenzgrad der Weibchen kleinere Differenzbeträge der Überlebenszeit und dem niedrigeren Resistenzgrad der Männchen größere Differenzbeträge

Tabelle 15: Differenzen der Durchschnittswerte von S1 und K für die Fütterungsdauer (I) und für die Überlebenszeit (II) der abgestorbenen Weibchen (in Tagen).
Prüfung der Differenzen der Überlebenszeit auf Homogenität (III)

Generation	I	II	III	
			t_{∞}	P
F_1	+0.6	+0.1	0.22	0,82
F_2	+0.4	+0.8	1.32	0.18
F_1	+1.0	+0.9	2.11	0.035
F_2	+0.3	-0.2	--	--
F_3	+0.3	-0.3	--	--
F_4	+0.8	+0.1	0.24	0.81
F_5	+0.4	+0.9	2.31	0.02
F_6	+0.5	+0.3	0.69	0.48

Tabelle 16: Differenzen der Durchschnittswerte von S1 und K für die Fütterungsdauer (I) und für die Überlebenszeit (II) der abgestorbenen Männchen (in Tagen)
Prüfung der Differenzen der Überlebenszeit auf Homogenität (III)

Generation	I	II	III	
			t_{∞}	P
F_1	+1.3	+1.7	4.48	<0,0002
F_2	+1.2	+1.6	3.22	0.0015
F_1	+1.2	+1.9	4.97	<0.0002
F_2	+0.6	+0.5	1.61	0.1
F_3	+0.9	+0.4	1.24	0.2
F_4	+1.6	+1.4	4.68	<0.0002
F_5	+0.9	+1.0	3.44	0.0002
F_6	+1.6	+1.6	5.46	<0.0002

gegenüberstehen. Aus diesen Werten ist zu entnehmen, daß auch diejenigen Versuchstiere (besonders die Männchen), die innerhalb der Selektionsreihe der Giftwirkung erlagen, einen höheren Resistenzgrad als die vergleichbaren Tiere der Kontrollen erreichten.

b. Selektionsreihe 2 bei einer Konzentration von 0,00125%

I. Darstellung des Selektionsverlaufes mit fehlerstatistischer Auswertung

Der gleiche Mäusestamm NMRI, der für die Selektionsreihe 1 Verwendung fand, wurde in einem neuen Versuch bei einer niedrigeren Konzentration ebenfalls der Selektion unterworfen. Für diese Selektionsreihe, die in den folgenden Tabellen die Bezeichnung "S2" erhält, wurde eine Giftkonzentration von 0,00125% gewählt. Auch während dieses Versuches wurden gleichaltrige Kontrolltiere mitgetestet, die wiederum als "K" in den Tabellen aufgeführt worden sind. Die Behandlungsart und die Begiftungsdauer waren die gleichen wie beim Selektionsversuch 1. Insgesamt wurden von diesem Stamm 6 Generationen der Selektion unterworfen. Die Begiftung der Versuchstiere von S2 erfolgte bei einem Lebensalter von 7 Wochen. In den Generationen F_1 - F_4 betrug die Anzahl der getesteten Tiere in beiden Geschlechtern durchschnittlich 40, erreichte aber in den beiden letzten Generationen einen Wert von durchschnittlich 80. Die Gesamtzahl der getesteten Tiere betrug für die Weibchen des Selektionsstammes 336 gegenüber 105 Kontrolltieren und für die Männchen der Selektionsreihe 347 gegenüber 106 Kontrolltieren. Die Prozentwerte der einzelnen Generationen des Kontrollstammes wurden wiederum zu einem Gesamtwert zusammengefaßt, da die Testwerte in allen Generationen nur geringe Differenzen aufwiesen. Die Kontrollreihen beider Geschlechter ergaben auch in diesem Falle Homogenität (Männchen: $\chi_1^2 = 0{,}457$, $P = 0{,}99$; Weibchen: $\chi_1^2 = 0{,}81$, $P = 0{,}2$).

In Tabelle 17 sind die Differenzen zwischen den Überlebensraten der Selektionsreihe und der Kontrollen mit einer fehlerkritischen Auswertung als "D" eingetragen worden, aus denen analog des Versuches 1 wiederum der Selektionsverlauf abgelesen werden kann. Der sich aus den Differenzen ergebende Resistenzanstieg ist in Abbildung 8 für beide Geschlechter graphisch dargestellt. Aus Tabelle 17 ist ersichtlich, daß die Differenzbeträge der Weibchen in 4 von 6 Fällen höhere Werte aufweisen als die vergleichbaren Differenzen der Männchen. Wie der Abbildung 8 zu entnehmen ist, überschneiden sich dadurch in der F_2

Tabelle 17: Resistenzanstieg nach Selektion bei Cumarinbegiftung (0,00125%). Vergleich der Überlebensraten 7 Wochen alter Mäuse der 2. Selektionsreihe und des Kontrollstammes

Generation	Getestete Weibchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Weibchen		D	s_D	$D/s_D=t$
	S2	K	S2	K			
P	22	105	6/27.3	24/22.9	--	--	--
F_1	51		18/35.3		0,124	0,0687	1,805
F_2	24		8/33.3		0,104	0,0977	1,064
F_3	37		15/40.5		0,176	0,0780	2,256
F_4	47		25/53.3		0,303	0,0820	3,695
F_5	82		40/48.8		0,259	0,0699	3,705
F_6	73		36/49.3		0,264	0,0720	3,666
	Getestete Männchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Männchen				
	S2	K	S2	K			
P	25	103	4/16.0	15/14.6	--	--	--
F_1	52		11/21.2		0,066	0,0636	1,038
F_2	31		9/29.0		0,144	0,0785	1,834
F_3	34		9/26.5		0,119	0,0751	1,585
F_4	45		18/40.0		0,254	0,0743	3,418
F_5	80		35/43.7		0,291	0,0664	4,382
F_6	80		30/37.5		0,229	0,0642	3,567

und F_5 die Anstiegslinien der Weibchen und der Männchen. In beiden Selektionslinien treten weiterhin Schwankungen im Verlauf der Selektion auf; es ist zu beobachten, daß in der Selektionsreihe der Weibchen von der F_1 zur F_2 und von der F_4 zur F_5 ein Abfall der Kurve erfolgt. In der Selektionslinie der Männchen ist stellenweise ebenfalls ein Abfall der Kurve zu beobachten; und zwar erfolgt hier der Rückgang der Selektionskurve von der F_2 zur F_3 und von der F_5 zur F_6. Dabei ist bemerkenswert, daß der Kurvenpunkt der F_6 sogar unterhalb dessen der F_4 liegt. Obwohl aus dem Verlauf der Kurven nicht

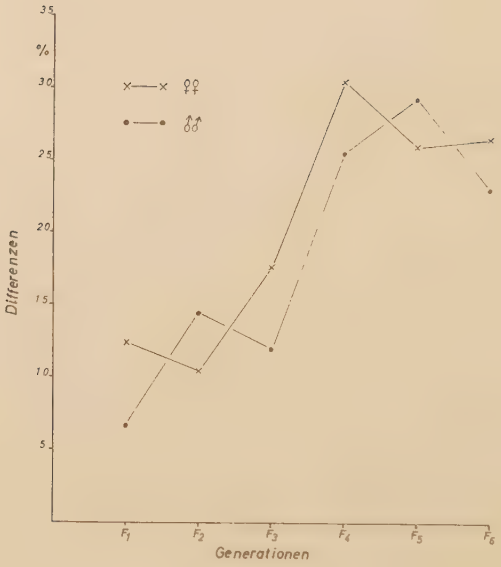


Abb. 8: Differenzen der Überlebensraten der 2. Selektionsreihe und der Kontrollen nach Cumarinbegiftung (0,00125%)

direkt die typische S-Form abgelesen werden kann, so ist aber trotzdem zu erwarten, daß sich die gefundenen Selektionskurven mit der für Selektionsprozesse typischen S-förmigen Kurve in Einklang bringen lassen.

Aus der fehlerstatistischen Berechnung für die beiden Differenzreihen ist zu erkennen, daß bei Selektion mit der niederen Konzentration signifikante Unterschiede zwischen S2 und K in beiden Geschlechtern erstmals in der F_4 auftreten, wenn wiederum t-Werte größer denn 3,00 als Voraussetzung für Signifikanz angesehen werden. Die im Gegensatz zur Selektionsreihe 1 erst im späteren Verlauf der Selektion aufgetretene Resistenz steht sicher in einem ursächlichen Zusammenhang mit der für diesen Versuch gewählten niedrigeren Konzentration. Der in diesem Fall schwächere Selektionsdruck gegenüber dem stärkeren der Selektionsreihe 1 ist offenbar dafür verantwortlich, daß bei Selektion mit der Giftkonzentration von 0,00125% Resistenz erst zu einem späteren Zeitpunkt auftritt.

Wie aus Tabelle 17 weiterhin zu entnehmen ist, zeigen die Generationen F_5 und F_6 in beiden Geschlechtern keine wesentliche Resistenzsteigerung mehr. Es ist daher anzunehmen, daß bereits nach der F_4 ein gewisser Sättigungseffekt erfolgte. Bei Begiftung mit der gleichen Konzentration (0,00125%) und anschließender Selektion wird deshalb kaum mit einem weiterenAnstieg der Resistenz zu rechnen sein.

In der Selektionreihe 2 wurden wiederum bei beiden Geschlechtern 2 Generationen zu einem Wert zusammengefaßt, um die im Verlaufe der Selektion aufgetretenen Schwankungen einigermaßen auszugleichen. Die sich ergebenden Differenzen aus den Überlebenswerten von S2 und K sind mit der üblichen fehlerkritischen Berechnung in der Tabelle 18 aufgeführt.

Aus den t-Werten der Tabelle 18 ist zu entnehmen, daß in beiden Geschlechtern signifikante Unterschiede zwischen S2 und K erstmals ab $F_3 + F_4$ zu erkennen sind. Bis zur $F_3 + F_4$ ergaben sich für die Weibchen höhere t-Werte, die gleichzeitig mit größeren Differenzbeträgen im weiblichen Geschlecht im Einklang stehen. Im Gegensatz dazu wurde jedoch in der $F_5 + F_6$ für die Männchen ein größerer t-Wert gefunden, der aber nicht mit einem größeren D im Verhältnis zu den Weibchen gekoppelt

Tabelle 18: Resistenzanstieg nach Selektion bei Cumarinbegiftung. Vergleich der Überlebensraten 7 Wochen alter NMRI-Mäuse von S2 und K für jeweils 2 Generationen.

Generationen	Getestete Weibchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Weibchen		D	s_D	$D/s_D=t$
	S2	K	S2	K			
F_1+F_2	75	105	26/34.7	24/22.9	0,118	0,0676	1,745
F_3+F_4	84		40/47.6		0,247	0,0692	3,569
F_5+F_6	155		76/49.0		0,261	0,0616	4,237
	Getestete Männchen		Anzahl und Prozentsatz der überlebenden Männchen				
	S2	K	S2	K			
F_1+F_2	83	103	20/24.1	15/14.6	0,095	0,0577	1,646
F_3+F_4	79		27/34.2		0,196	0,0629	3,116
F_5+F_6	160		65/40.6		0,260	0,0581	4,475

ist, sondern einen fast gleichgroßen Betrag erreicht.

Die Prüfung auf Signifikanz nach dem χ^2-Verfahren läßt für den Selektionsverlauf die gleiche Tendenz erkennen. In Tabelle 19 sind die χ^2- und P-Werte für jeweils 2 Generationen von S2 für beide Geschlechter aufgeführt.

Tabelle 19: Prüfung nach dem χ^2-Verfahren auf Signifikanz für jeweils 2 Generationen der Selektionsreihe 2

Generationen	Weibchen		Männchen	
	χ^2_1	P	χ^2_1	P
F_1+F_2	3,041	0,082	2,737	0,1
F_3+F_4	12,759	0,0004	9,678	0,002
F_5+F_6	18,114	2×10^{-5}	20,116	10^{-5}

Aus den beiden Tabellen 18 und 19 ist ersichtlich, daß nach einem anfänglichen Vorteil der Weibchen (bis F_3+F_4) in den

letzten beiden Generationen die Männchen hinsichtlich der Resistenzhöhe ein Übergewicht erlangten. Außerdem besagt der Vergleich der Differenzen, daß in den ersten 4 Generationen ein schnellerer Resistenzanstieg als in den darauffolgenden Generationen bei beiden Geschlechtern erfolgte. Besonders von der F_3 zur F_4 kommt dieser rasche Resistenzanstieg auffällig zum Ausdruck, während danach in beiden Geschlechtern verhältnismäßig große Schwankungen eingetreten sind, die sich auch gleichzeitig in einem reduzierten Selektionsvorteil äußern.

Wird für die F_5+F_6 der Selektionsvorteil berechnet (Weibchen: 0,261, Männchen: 0,260), so kann daraus kein eindeutiger Beweis für die Überlegenheit eines Geschlechts abgeleitet werden. Auch die Vernichtungswahrscheinlichkeiten der Kontrollstämme zu der der Selektionsstämme, die für die Weibchen 1000 : 739 und für die Männchen 1000 : 740 betragen, und die daraus resultierenden Überlebenswahrscheinlichkeiten von fast gleicher Größe geben keinen Anhaltspunkt für einen höheren Resistenzgrad eines Geschlechts. Wenn aber nicht die zusammengefaßten Generationen F_5+F_6 zugrunde gelegt werden, sondern nur die F_6 beider Geschlechter, dann ist es möglich, unterschiedliche Selektionsvorteile, Vernichtungswahrscheinlichkeiten und Überlebenswahrscheinlichkeiten abzuleiten. Der Selektionsvorteil berechnet sich dann für die Weibchen zu 0,264 und für die Männchen zu 0,229, aus denen sich eine VW des Kontrollstammes zur VW des Selektionsstammes für die Weibchen zu 1000 : 736 und für die Männchen zu 1000 : 771 ergibt. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Weibchen von S2 ist demnach 1,36 mal höher als die der Kontrollweibchen und die der Männchen von S2 1,29 mal höher gegenüber den Männchen des Kontrollstammes. Diese beiden Zahlen besagen, daß die Weibchen des Selektionsstammes 2 nur einen geringfügig höheren Resistenzgrad erreichen als die Männchen. Wenn man weiterhin den Gesamtverlauf der Selektionsreihe 2 betrachtet, dann kann auch daraus für die Weibchen ein höherer Grad an Resistenz gefolgert werden.

II. Vergleich der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere

Für die Selektionsreihe 2 wurden ebenfalls die Durchschnittswerte der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit für die abgestorbenen Tiere im Vergleich zu den Kontrolltieren zusammengestellt.

In Tabelle 20 werden die Werte für die einzelnen Generationen und für beide Geschlechter miteinander verglichen, wobei die Einzelwerte bei den Kontrollen wiederum zu einem Gesamtwert zusammengefaßt worden sind.

Tabelle 20: Vergleich der Durchschnittswerte der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit für die abgestorbenen Tiere beim Selektionsstamm 2 und den Kontrollen (in Tagen).
- Die Anzahl der Tiere jeweils in der Klammer -

Generation	Fütterungsdauer der abgestorbenen Weibchen		Überlebenszeit der Weibchen	
	S2	K	S2	K
F_1	5.6 (33)	5.4 (81)	7.1 (33)	6.8 (81)
F_2	6.0 (16)		7.6 (16)	
F_3	6.3 (22)		8.3 (22)	
F_4	6.2 (22)		8.0 (22)	
F_5	5.7 (42)		7.5 (42)	
F_6	5.7 (37)		6.9 (37)	
	Fütterungsdauer der abgestorbenen Männchen		Überlebenszeit der Männchen	
	S2	K	S2	K
F_1	5.3 (41)	4.7 (88)	7.0 (41)	6.5 (88)
F_2	6.2 (22)		8.4 (22)	
F_3	5.6 (25)		7.1 (25)	
F_4	5.9 (27)		8.3 (27)	
F_5	5.7 (45)		7.9 (45)	
F_6	5.7 (50)		7.2 (50)	

In den folgenden Tabellen 21 und 22 sind die sich aus Tabelle 20 ergebenden Differenzen zwischen S2 und K wiedergegeben, die für die Beurteilung des Selektionsprozesses einen weiteren Beitrag liefern. Die Differenzbeträge der Überlebenszeit wurden wiederum nach dem t-Verfahren auf Homogenität geprüft.

Tabelle 21: Differenzen der Durchschnittswerte von S2 und K für die Fütterungsdauer (I) und für die Überlebenszeit (II) der abgestorbenen Weibchen (in Tagen).
Prüfung der Differenzen der Überlebenszeit auf Homogenität (III)

Generation	I	II	III	
			t_∞	P
F_1	+0.2	+0.3	0.84	0.4
F_2	+0.6	+0.8	1.58	0.11
F_3	+0.9	+1.5	3.58	0.0003
F_4	+0.8	+1.2	2.80	0.005
F_5	+0.3	+0.7	2.14	0.035
F_6	+0.3	+0.1	0.28	0.78

Tabelle 22: Differenzen der Durchschnittswerte von S2 und K für die Fütterungsdauer (I) und für die Überlebenszeit (II) der abgestorbenen Männchen (in Tagen).
Prüfung der Differenzen der Überlebenszeit auf Homogenität

Generation	I	II	III	
			t_∞	P
F_1	+0.6	+0.5	2.00	0.045
F_2	+1.5	+1.9	4.92	<0.0002
F_3	+0.9	+0.6	1.76	0.08
F_4	+1.2	+1.8	4.96	<0.0002
F_5	+1.0	+1.4	4.27	<0.0002
F_6	+1.0	+0.7	2.41	0.016

Die errechneten Differenzbeträge und P-Werte der Tabellen 21 und 22 stehen im wesentlichen in Einklang mit den entsprechenden Befunden der Selektionsreihe 1 (vgl. Tabellen 15 und 16). Beim Selektionsstamm 2 konnte ebenfalls festgestellt werden,

daß die P-Werte bei den Männchen niedriger liegen als die vergleichbaren bei den Weibchen, wenn auch in diesem Falle geringere Unterschiede zwischen den Geschlechtern ermittelt worden sind. Zwischen dem Resistenzanstieg und der Überlebenszeit der abgestorbenen Tiere besteht sicher auch bei der Selektionsreihe 2 eine reziproke Korrelation, denn dem etwas niedrigeren Resistenzgrad der Männchen stehen wiederum größere Differenzen der Überlebenszeit und dem etwas höheren Resistenzgrad der Weibchen kleinere Differenzbeträge gegenüber.

Betrachtet man die P-Werte beider Geschlechter, so kann man feststellen, daß nach einem Anstieg der Signifikanz ab der F_4 (bei den Weibchen) bzw. ab der F_5 (bei den Männchen) wieder ein Rückgang erfolgt, während bei der Selektionsreihe 1 diese Tendenz nicht beobachtet werden konnte. Aus dem Rückgang der Signifikanz der Differenzen der abgestorbenen Tiere von der F_4 bzw. F_5 zur F_6 läßt sich ebenfalls ein gewisser Sättigungseffekt ableiten, der mit dem der Selektionsreihe konform geht.

3. Zuchtversuche

a. Zuchtverfahren

Zur beantwortung der Frage nach dem Zuchterfolg, dem Aufzuchtvermögen, der Fruchtbarkeit und der Wurfgröße sind die nachfolgenden Tabellen zusammengestellt worden, und zwar jeweils getrennt für den K-Stamm und die beiden Selektionsstämme S1 und S2.

Zunächst soll jedoch den einzelnen Tabellen eine kurze Beschreibung des angewandten Zuchtverfahrens vorangestellt werden.

Während des gesamten Zuchtverfahrens wurden die Männchen und die Weibchen ständig zusammengehalten, um möglichst ökonomisch zu arbeiten. Wenn auch das Isolieren hochtragender Weibchen während des Werfens und Säugens gewisse Vorteile bietet (bessere Kontrolle), so ist aber das ständige Zusammenhalten beider Geschlechter durchaus vertretbar. Bei diesem Zuchtverfahren ist als wesentlicher Gesichtspunkt eine rasche Folge der

einzelnen Würfe gewährleistet, da die nach der Geburt auftretende Brunst der Weibchen züchterisch ausgenutzt wird. Bei einer unterbrochenen Zucht ist es nämlich auffallend, daß die Befruchtungsergebnisse schlechter ausfallen und eine teilweise wesentlich verzögerte Brunst auftritt. GEHRING (1956) folgert daher, daß das ständige Zusammenhalten beider Geschlechter den natürlichen Verhältnissen bei der Maus entspricht. Bei sachgemäßer Zucht und Haltung folgen die Würfe bei ständig zusammengehaltenen Zuchttieren etwa alle 28 - 32 Tage, so daß in jedem Monat mit einem Wurf pro Weibchen zu rechnen ist. Bei isoliert gehaltenen Zuchtweibchen beträgt die Zeitspanne 45 - 48 Tage, wobei es teilweise noch zu größeren Abständen kommen kann. GEHRING (l.c.) weist darauf hin, daß eine Schonung der Zuchtweibchen durch isoliertes Halten als überholt anzusehen ist. Eine solche Schonung und die sich daraus ergebende längere Zuchtbenutzungsmöglichkeit ist schon deshalb unerwünscht, weil mit zunehmendem Alter der Zuchttiere die individuelle Mutationsrate ansteigen kann.

Obwohl in den vorliegenden Zuchtversuchen in den meisten Fällen zwei Weibchen mit einem Männchen verpaart wurden (in wenigen Fällen erfolgte eine 1,3- oder 1,1-Verpaarung), war die Kontrolle über die Zuchtleistung der einzelnen Muttertiere trotzdem jederzeit gewährleistet. Eine Verpaarung eines Männchens mit zwei oder mehreren Weibchen hat ferner den Vorteil, daß beim Absterben eines Muttertieres während des Säugens die anderen Weibchen die Aufzucht der Jungen übernehmen. Ein erhöhter Ausfall an Jungtieren infolge der Muttersterblichkeit wird somit auf ein Minimum herabgesetzt.

Einen wesentlichen Faktor für die Beurteilung eventuell auftretender Störungen in Form einer pharmakologischen Belastung stellen die Aufzuchtverluste der Jungtiere und die Wurfgröße dar. Im vorliegenden Falle wurden deshalb die Aufzuchtverluste und die Wurfgrößen für den Kontrollstamm, für die S1- und S2-Reihe für jede Generation und für jeden Wurf ermittelt; außerdem erfolgte eine nach Würfen getrennte Zusammenfassung der getesteten Generationen, wodurch bessere Vergleiche zwischen den 3 Stämmen möglich sind. Es zeigte sich, daß die Überlebensrate um 88% liegt. Wenn man die von GEHRING angegebenen

Aufzuchtverluste von 17% bei einer 1,2-Verpaarung zugrunde legt, so ist zu erkennen, daß die ermittelten Werte für die vorliegenden Zuchtversuche sogar noch etwas günstiger liegen, und zwar bei ca. 12%.

Die Verpaarung der Zuchttiere erfolgte bei beiden Selektionsreihen unmittelbar im Anschluß an die Beendigung der Begiftung; in nur wenigen Fällen hat es sich wegen offensichtlicher Schwäche der Versuchstiere als notwendig erwiesen, zwischen Beendigung der Begiftung und Verpaarung eine Erholungspause von 2-3 Tagen einzuschalten. Da die Begiftung der Versuchstiere bei einem Lebensalter von 7 Wochen (± 3 Tage) erfolgte und die Dauer der Begiftung maximal 10 Tage betrug, kann das Alter bei Verpaarung mit etwa 9 Wochen angegeben werden.

Die gleichzeitig getesteten Kontrolltiere wurden ebenfalls bei einem durchschnittlichen Lebensalter von 9 Wochen verpaart. Obwohl die jeweilige Begiftung der Kontrollen ebenfalls mit 7 Wochen wie bei den Selektionsreihen erfolgte, ist aus der Altersangabe von 9 Wochen zu entnehmen, daß die restlichen Tiere der nicht begifteten Kontrollen erst nach weiteren 2 Wochen zur Verpaarung kamen. Somit waren die gleichen Voraussetzungen sowohl für die Kontrolltiere als auch für die Selektionsreihen hinsichtlich der Verpaarung und der Beurteilung der Nachkommenschaft geschaffen.

Da alle Weibchen zu diesem Zeitpunkt als voll zuchtfähig angesehen werden können, gab es in den Zuchten auch kaum nennenswerte Ausfälle durch zu jung verpaarte Tiere. Auch Ausfälle in Form von beobachteter Sterilität einzelner Zuchttiere traten nur selten auf. Insgesamt mußten 6 Weibchen als steril bezeichnet werden, da sie nach zweimaligem Partnerwechsel, darunter mit einem bereits bewährten Männchen, nicht zur Konzeption gekommen waren. Um unnötige Korrekturen in den Tabellen zu vermeiden, wurden diese als steril angesehenen Weibchen für die Auswertung nicht berücksichtigt.

b. Zeitliche Abstände zwischen den Würfen der drei benutzten Stämme

I. Biologische Grundlagen der Trächtigkeitsdauer

Normalerweise beträgt die Tragzeit einer nichtsäugenden Maus 18 bis 19 Tage. Je nach Beschaffenheit des Mäusestammes kann jedoch diese Zeit bis zu 22 Tagen verlängert sein. Diese Tragzeiten gelten jedoch nur dann, wenn trächtige Weibchen nicht säugen. Erfolgt in dem zwanzig Stunden nach dem Werfen auftretenden Östruszyklus eine erneute Befruchtung und werden die Jungtiere bei den Weibchen gelassen, dann ist die Tragzeit meistens verlängert.

Die Zykluslängen unterliegen bei der Maus (und bei der Ratte) erheblichen Schwankungen. PARKES (1928) gibt beispielsweise Zyklusschwankungen zwischen 4 Tagen (in 15,8% aller Fälle) und 10 bis 28 Tagen (8,5%) an; in 79,1% aller Fälle wurden jedoch Zykluslängen von 4 bis 7 Tagen beobachtet. Die Ursache der relativ großen Variabilität der Zykluslängen ist wahrscheinlich in einer Labilität des follikelstimulierenden Hormons (FSH, Prolan A; Follikelreifungshormon) und des luteinisierenden Hormons (LH, Prolan B), durch dessen Wirkung es zur Ovulation kommt, zu suchen (SALZMANN, 1963).

Über die Ursachen der Tragzeitverlängerungen bestehen unterschiedliche Auffassungen. Während nach SNELL (aus HAGEMANN, 1960) die Dauer der verlängerten Tragzeiten von der Größe der Würfe abhängt, unterscheidet GRÜNEBERG zwischen Weibchen, die ihren ersten Wurf aufziehen und solchen, die bereits mehrfach geworfen haben. Bei mehr als drei Jungen sind Verlängerungen bis zu 16 Tagen nicht ungewöhnlich, während bei Erstlingsweibchen (Weibchen, die noch nicht geworfen haben) die Verlängerungen 8 bis 13 Tage und bei Weibchen, die bereits ein- oder mehrmals gesäugt haben, die Verlängerungen 6 bis 16 Tage betragen. Es sind aber auch Verlängerungen von nur 1 bis 2 Tagen beobachtet worden. GEHRING (1956) gibt bei einer durchschnittlichen Tragzeit von 19 Tagen eine Graviditätszeit für laktierende Tiere, die 3 bis 13 Junge säugen, von 18 bis 29 Tagen an. Allgemein wurde festgestellt, daß bei mehr als drei

Jungen in allen Fällen Verzögerungen eintreten.

Die Verlängerungen der Trägzeiten sind eine Folge verspäteter Implantation der Embryonen (BRUCE, 1947). Die Implantation erfolgt in diesem Falle nicht, wie normalerweise, während des 5.Tages nach der Befruchtung, sondern erst zu einem späteren Zeitpunkt. Die Embryonen liegen dann während dieser Zeit frei im Uterus. Die Implantationsverzögerung bei laktierenden Tieren wird nach BLOCH (1959) auf einen Mangel an östrogenem Hormon zurückgeführt, das während der Laktation im mütterlichen Organismus gebildet wird. Da aber kleine Östrogenmengen nötig sind, um die Nidation herbeizuführen, unterbleibt bei säugenden Weibchen die Implantation. Die wird dadurch verzögert, daß die säugenden Jungen die FSH- und LH-Sekretion hemmen, so daß gleichzeitig eine gewissen Intensität der Sekretion des luteotropen Hormons (LTH) hervorgerufen wird, das die Milchsekretion in Gang bringt.

Die Zeitdauer zwischen Verpaarung und ersten Wurf war bei allen drei Stämmen recht variabel, wenn auch die Mehrzahl der erstmals trächtigen Weibchen nach der zu erwartenden Zeit warfen (21 -24 Tage). Die Zeitspannen von der Verpaarung bis zum 1. Wurf sind in Tabelle 23 enthalten. Aus dieser ist zu entnehmen, daß recht beträchtliche Abweichungen auftreten, und zwar wurden Schwankungen zwischen 19 und 44 Tagen beobachtet. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Dauer von der Verpaarung bis zum 1. Wurf nicht immer identisch ist mit der reinen Trächtigkeitsdauer, denn es ist nicht zu erwarten, daß alle Weibchen sofort nach der Verpaarung konzipieren. Wenn man einen Ostruszyklus von 4 - 7 Tagen voraussetzt, in dessen Verlauf Begattung und Befruchtung erfolgen, so lassen sich die ermittelten Werte des 1. Wurfes nichtsäugender Weibchen mit der Trächtigkeitsdauer von 18 bis 22 Tagen gut in Einklang bringen. Die übermäßig verlängerten Intervalle (im allgemeinen vom 27. Tag ab) zwischen Verpaarung und dem 1. Wurf sind sicher auf Diskrepanzen zwischen den einzelnen Männchen und Weibchen zurückzuführen, denn es ist bekannt, daß manche Weibchen ihren Partner erst nach einer längeren Zeitspanne akzeptieren. Auch ist es möglich, daß innerhalb eines Östrus' die Ovulation ausbleibt, so daß trotz Begattung keine Befruch-

tung stattfindet. Besonders bei jungen Weibchen braucht nicht jeder Östrus von einer Ovulation begleitet zu sein.

Die Zeitspannen zwischen dem 1. und 2. sowie dem 2. und 3. Wurf waren erwartungsgemäß erheblich länger als die Dauer von der Verpaarung bis zum 1. Wurf, da die säugenden Weibchen aus den genannten Gründen entweder nicht sofort neu konzipieren oder aber nach einer erneuten Befruchtung die Tragzeiten infolge des Säugens erheblich verlängert sind. Außerdem konnte festgestellt werden, daß die Zeitabstände zwischen dem 1. und 2. sowie dem 2. und 3. Wurf stärker variierten als die Dauer bis zum 1. Wurf. Die recht unterschiedlichen Zeitabstände zwischen diesen Würfen sind sicher zum Teil auf individuelle Beschaffenheiten der einzelnen Weibchen zurückzuführen. Es kann der Fall eintreten, daß entweder die säugenden Weibchen unmittelbar nach dem Werfen (also innerhalb des nächsten Zyklus) begattet werden, so daß eine Befruchtung stattfinden kann, oder aber es vergehen bis zur nächsten Begattung mit einer Befruchtung mehrere Tage, im Extremfall bis zu 3 Wochen. Die verlängerten Zeitspannen können auch hervorgerufen werden durch einen Vaginalabschluß der laktierenden Weibchen, der keine Begattung möglich werden läßt. Erst die Öffnung der verschlossenen Vagina, die mit dem ersten Östrus nach der Geburt oder nach der Laktation erfolgt, ermöglicht eine erneute Begattung. Man sieht also, daß die große Variabilität der Zeitabstände in den verschiedensten Ursachen zu suchen ist.

II. Die Zeitspannen zwischen den Würfen

In Tabelle 23 sind die Zeitspannen zwischen den einzelnen Würfen für die drei getesteten Stämme aufgeführt. Die graphische Darstellung dieser Zeitspannen ist in Abbildung 9 zu finden.

Die durchschnittlichen Zeitspannen wurden als arithmetisches Mittel aus den Einzelwerten berechnet, wobei in allen Fällen Klasseneinteilungen vorgenommen worden sind. Die Berechnungen erfolgten ausschließlich nach dem Multiplikationsverfahren.

Die Klassenbildung wurde je nach der Eigenart der einzelnen Reihen festgelegt, da eine allgemeingültige Klasseneinteilung nicht vorgenommen werden kann. Für die Berechnung der Mittelwerte des 1. Wurfes bot sich eine Klassengröße von 2 für die

Kontrollen und die Selektionsreihe 1 und von 3 für die Selektionsreihe 2 an, da eine relativ geringe Variabilität innerhalb der Reihen zu verzeichnen ist. Die Klassenmitten betrugen für K 22,5 Tage, für S1 23,5 Tage und für S2 23,0 Tage. Hierbei ist zu vermerken, daß bei der Berechnung des Mittelwertes für K der 44-Tage-Wert vernachlässigt wurde, da er zu weit außerhalb der Norm liegt und deshalb die Berechnung ungerechtfertigt beeinflußt hätte.

Für die Mittelwertberechnung des 2. Wurfes wurden Klassenbreiten für K von 5 (Klassenmitte 39,0 Tage), für S1 von 5 (Klassenmitte 31,5 Tage) und für S2 von 6 (Klassenmitte 31,5 Tage) zugrunde gelegt. Die Klasseneinteilung für die Mittelwertberechnung des 3. Wurfes betrug für K = 5 (Klassenmitte 28,0 Tage), für S1 = 5 (Klassenmitte 30,0 Tage) und für S2 = 6 (Klassenmitte 28,5 Tage).

Der Klassenbildung liegt die Annahme zugrunde, daß sich die Einzelwerte innerhalb der Klassen gleichmäßig verteilen, so daß der als Klassenmitte angegebene Wert als Durchschnitt aller der betreffenden Klasse angehörenden Einzelwerte betrachtet werden kann. Diese Annahme erweist sich jedoch in der Praxis sehr oft als nicht erfüllt. Da aber die Abweichungen in dem oberhalb von x_o (Klassenmitte) gelegenen Teil in entgegengesetzter Richtung erfolgen wie in dem unterhalb von x_o gelegenen Teil, so heben sie sich im Durchschnitt wieder auf und beeinflussen deshalb das Ergebnis des arithmetischen Mittels nicht wesentlich.

Bei der Klassenbildung ist darauf zu achten, daß die Einteilung nicht zu groß gewählt wird, denn der Mittelwert ist abhängig von der betreffenden Klassenbreite. Je enger die Klassen gewählt werden, desto genauer ist der Mittelwert. Im allgemeinen sollte eine breitere Zusammenfassung als in 6 Klassen vermieden werden.

Die Berechnungsformel für das arithmetische Mittel für Verteilungen mit der Klassengröße d ist $\bar{x} = x_o + b \cdot d$, wobei x_o die Klassenmitte, b die durchschnittliche Abweichung von x_o, die einen positiven oder negativen Wert haben kann, und d die Klassengröße darstellen.

Tabelle 23: Zeitspannen zwischen der Verpaarung und dem 1. Wurf (I), zwischen dem 1. Wurf und dem 2. Wurf (II) und zwischen dem 2. Wurf und dem 3. Wurf (III) für alle drei Stämme

Dauer (in Tagen)	Anzahl der Geburten								
	I			II			III		
	K	S1	S2	K	S1	S2	K	S1	S2
19	1	1	-	-	1	-	-	-	-
20	10	2	4	-	-	1	-	-	1
21	8	7	6	-	2	-	1	3	1
22	18	8	12	1	1	3	2	-	-
23	12	12	9	-	-	1	1	1	3
24	5	10	4	-	4	-	6	2	1
25	7	5	5	6	-	-	1	3	3
26	-	4	4	3	1	1	9	2	3
27	2	1	2	3	5	-	5	4	3
28	3	2	4	2	-	3	5	4	5
29	-	-	2	2	1	5	3	6	1
30	1	-	-	2	5	3	2	1	2
31	1	-	1	2	2	6	5	4	2
32	-	-	-	2	2	-	6	5	1
33	1	1	-	2	4	3	-	-	2
34	-	-	-	4	1	2	1	2	3
35	-	1	2	3	3	1	2	3	2
36	-	-	-	-	4	-	1	1	3
37	-	-	-	1	2	1	1	2	3
38	-	-	1	1	2	1	1	-	1
39	-	-	-	4	-	1	1	1	1
40	-	-	-	3	3	6	3	1	5
41	-	-	-	4	2	2	1	1	2
42	-	-	-	4	3	2	1	-	1
43	-	-	-	4	1	3	-	1	2
44	1	-	-	2	2	3	1	1	-
45	-	-	-	1	-	-	1	-	2
46	-	-	-	-	-	2	-	1	1
47	-	-	-	-	-	1	-	-	1
48	-	-	-	2	-	2	-	1	1
49	-	-	-	-	-	2	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	1	-
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	1	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	1	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	1	-	-	-
55	-	-	-	1	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Gesamtzahl der Weibchen	70	54	56	60	53	56	60	52	56

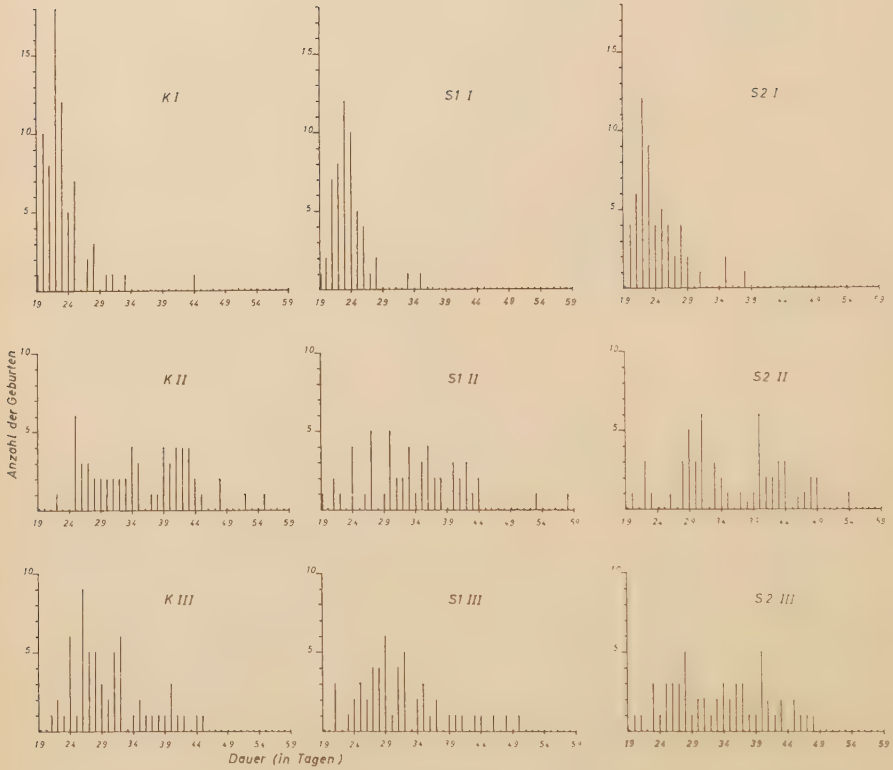


Abb. 9: Zeitspannen zwischen den Würfen
Graphische Darstellung von Tabelle 23

Zur Beschreibung des Mittelswertes ist weiterhin die Kenntnis der Streuung der Einzelglieder um den Mittelwert von größter Wichtigkeit, da erst dadurch ein Einblick in die Variabilität vermittelt wird. Für die vorliegenden Meßreihen wurde die mittlere quadratische Abweichung gewählt, da deren Verteilung die kleinste Streuung aufweist und das beste Maß zur Schätzung in der Grundgesamtheit bietet. Sie ist außerdem am besten geeignet, über die Streuung der Einzelwerte der Stichprobe Aufschluß zu geben.

Die mittlere quadratische Abweichung s wird definiert durch

$$s = \sqrt{\frac{Sz_i \left(\frac{x_i - x_o}{d}\right)^2}{n-1} - \frac{n}{n-1} \cdot b^2} \cdot \text{Klassengröße}$$

Innerhalb des Spielraumes $\pm$ s liegen bei einer Normalverteilung 68,27% aller Einzelwerte, 95,45% innerhalb $\pm$ 2s und 99,73% innerhalb $\pm$ 3s.

Die Mittelwerte der Zeitspannen zwischen den einzelnen Würfen und die dazugehörigen Streuungen s berechneten sich für die drei Stämme (in Tagen) wie folgt:

Tabelle 24: Mittelwerte der Zeitspannen und Streuungen zwischen den einzelnen Würfen

	K			S1			S2		
	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s
1.Wurf	70	23,0	2,6	54	23,7	2,8	56	24,5	3,9
2.Wurf	60	35,5	7,9	53	33,5	7,4	56	35,8	8,4
3.Wurf	60	30,4	5,4	52	31,1	6,9	56	33,2	7,1

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß zwar zwischen den drei Stämmen geringfügige Abweichungen in den Zeitspannen bestehen, daß aber trotzdem eine Interpretation nur schwer vorzunehmen ist.

Besonderes Augenmerk ist bei der Beurteilung der abweichenden Zeitspannen dem 1.Wurf zu widmen, da hierbei die pharmakologische Belastung der beiden Selektionsreihen am größten ist. Die beiden folgenden Würfe können dagegen unberücksichtigt

bleiben, weil bei ihnen mit einem Nachlassen des Gifteinflusses auf die Muttertiere und ihre Nachkommenschaft zu rechnen ist. Mehrere Wochen nach Beendigung der Begiftung dürfte das applizierte Cumarin abgebaut sein, so daß sich danach sicher keine toxischen Substanzen mehr im Tierkörper befinden.

Der für die vorliegenden Untersuchungen interessierende 1.Wurf gibt einen geringen Hinweis auf verlängerte Zeitspannen für die beiden Selektionsreihen. Die Differenzen betragen zwischen K und S1 0,7 Tage und zwischen K und S2 sogar 1,5 Tage. Die ermittelten Differenzbeträge lassen vermuten, daß möglicherweise doch ein gewisser Einfluß des Giftes auf die Paarungsbereitschaft der behandelten Tiere ausgeübt wird. Wie bereits beschrieben worden ist, erfolgte die Verpaarung der Resistenten unmittelbar nach Beendigung der Begiftung. Da im Anschluß daran sicher ein Teil der überlebenden Versuchstiere nicht mehr die ursprüngliche Vitalität wie vor Versuchsbeginn besitzt, wenn auch äußerlich in den meisten Fällen keine Veränderungen wahrgenommen werden, ist zumindestens bei einzelnen Tieren mit einer Verzögerung der Paarungsbereitschaft zu rechnen. Es ist durchaus denkbar, daß infolge der Gifteinwirkung der Hormonhaushalt der Weibchen für eine kurze Zeitspanne bis zum Abbau des Cumarin gestört wird und daß aus diesem Grunde eine Störung des normalen Östruszyklus erfolgt. Wenn auch in diesem Zusammenhang mit einem Einfluß des Cumarin gerechnet werden kann, so hat die Giftwirkung für die weitere Entwicklung der Trächtigkeit sicher keinen direkten Einfluß mehr, da die Wurfgrößen und die Mortalitätsquoten der Nachkommen als unabhängig von der Giftwirkung angesehen werden. Es kann daher mit einem relativ schnell verlaufenden Abbau des Cumarin im Körper gerechnet werden. Bei einer länger andauernden Stabilität des Agens über die empfindliche Periode der Trächtigkeit (8. - 10. Tag) hinaus müßten umfangreichere Störungen an den Embryonen festgestellt werden.

c. Wurfgrößen und Überlebensraten der Jungtiere

Im folgenden Abschnitt werden die Größen der einzelnen Würfe und die Überlebensraten der Nachkommen für die drei getesteten Stämme dargestellt.

Die in den Tabellen 25 und 26 nicht immer übereinstimmende Anzahl der getesteten Weibchen ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß einzelne Weibchen während des Versuchs ohne erklärbaren Grund starben. Beim 1.Wurf der F_2 vom Kontrollstamm wurden zwei Versuchsreihen zusammengefaßt, von denen die eine im weiteren Verlaufe nicht fortgeführt wurde.

Betrachtet man die durchschnittlichen Wurfgrößen in den Zusammenfassungen der getesteten Generationen, so erkennt man, daß der Durchschnitt in allen drei Stämmen vom 1.Wurf zum 3.Wurf ansteigt. Die Durchschnittswerte der drei Stämme und der vergleichbaren Generationen liegen dabei ungefähr in der gleichen Größenordnung mit relativ gering voneinander abweichenden Differenzbeträgen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Befunden, aus denen ermittelt wurde, daß zwischen dem Alter eines Tieres und der Anzahl der gesprungenen Follikel eine Korrelation besteht (SALZMANN, 1963). Bei jungen Tieren springen im Durchschnitt weniger Follikel als bei älteren. Die Wurfgrößenzunahme mit fortschreitendem Alter der Muttertiere ist also korreliert mit einer vermehrten Zahl springender Follikel älterer Tiere, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß die Zahl gesprungener Follikel im Durchschnitt höher liegt als die durchschnittliche Wurfgröße. Diese Diskrepanz wird nach SALZMANN (1963) darauf zurückgeführt, daß nicht alle ovulierten Eier zur Entwicklung gelangen oder daß während der Entwicklung Keime absterben.

Aus der Tabelle 26 ist zu entnehmen, daß nicht alle getesteten Generationen aufgeführt worden sind. Das Fehlen der Generationen P - F_2 der 1.Gruppe liegt darin begründet, daß durch die vorher erwähnten diätetischen Unzulänglichkeiten die Wurfgrößen und die Anzahl der überlebenden Jungen so stark reduziert waren, daß die Aufnahme dieser Werte in die Tabelle als nicht ratsam erschien. Auch die Nichtberücksichtigung der P-Generation in der Zusammenfassung erklärt sich aus den gleichen Gründen.

Die Variationsbreiten können für die Durchschnittswerte nicht exakt angegeben werden, da die Kontrolle der Anzahl der Jungtiere pro Weibchen durch die größtenteils erfolgte 1,2-Verpaarung erschwert war. Besonders beim 1.Wurf trat diese Fest-

Tabelle 25: Durchschnittliche Größe der einzelnen Würfe und Überlebensraten der Jungtiere des Kontrollstammes

Gen.	Wurf	Anzahl der Weibch.	Anzahl der Jung-tiere	Durch-schnitt pro Weibch.	Anzahl d.abge-storb. Jung-tiere	Anzahl d.über-lebend. Jung-tiere	Überle-bende Jung-tiere (in %)
P	1.	10	87	8.7	5	82(41,41)	94,3
	2.	7	64	9.1	5	59(31,28)	92,2
	3.	7	62	8.9	10	52(28,24)	83,9
						193(100,93)	
F_1	1.	9	76	8.4	7	69(38,31)	90,8
	2.	9	73	8.1	8	65(32,33)	89,0
	3.	9	87	9.7	7	80(44,36)	91,9
						214(114,100)	
F_2	1.	15	116	7.7	24	92(43,49)	80,0
	2.	8	74	9.2	15	59(27,32)	79,7
	3.	8	78	9.7	17	61(28,33)	78,2
						212(98,114)	
F_3	1.	8	74	9.2	7	67(28,39)	90,5
	2.	8	54	6.7	5	49(23,26)	90,8
	3.	8	75	9.4	16	59(27,32)	78,7
						175(78,97)	
F_4	1.	8	56	7.0	3	53(37,16)	95,6
	2.	8	62	7.7	6	56(34,22)	90,3
	3.	8	55	6.9	6	49(25,24)	89,1
						158(96,62)	
F_5	1.	6	52	8.7	2	50(28,22)	96,1
	2.	6	55	9.1	3	52(28,24)	94,5
	3.	6	54	9.0	5	49(25,24)	90,7
						151(81,70)	
F_6	1.	10	81	8.1	11	70(34,36)	86,4
	2.	10	81	8.1	12	69(31,38)	85,2
	3.	10	104	10.4	16	88(44,44)	84,6
						227(109,118)	
F_7	1.	4	30	7.5	0	30(14,16)	100,0
	2.	4	36	9.0	4	32(17,15)	88,8
	3.	4	41	10.2	2	39(22,17)	95,1
						101(53,48)	
Zusammenfassung der Generationen P - F_7							
P-F_7	1.	70	572	8.2	59	513(263,250)	89,7
	2.	60	499	8.3	58	441(223,218)	88,4
	3.	60	556	9.3	79	477(243,234)	85,8
						1431(729,702)	87,9

Tabelle 26: Durchschnittliche Größe der einzelnen Würfe und Überlebensraten der Jungtiere der Selektionsreihe S1 (2.Gruppe)

Gen.	Wurf	Anzahl der Weibch.	Anzahl der Jungtiere	Durchschnitt pro Weibch.	Anzahl d.abgestorb. Jungtiere	Anzahl d.überlebend. Jungtiere	Überlebende Jungtiere (in %)
P	1.	5	30	6.0	29	1(1, 0)	3,3
	2.	5	35	7.0	32	3(1, 2)	8,6
	3.	4	24	6.0	4	20(7,13)	83,3
	4.	4	34	8.5	6	28(13,15)	82,4
	5.	2	12	6.0	1	11(8, 3)	91,7
						63(30,33)	
F_1	1.	8	64	8.0	7	57(29,28)	89,1
	2.	7	80	11.4	19	61(34,27)	76,2
	3.	7	79	11.3	8	71(39,32)	90,0
						189(102,87)	
F_2	1.	5	33	6.6	11	22(10,12)	66,6
	2.	5	44	8.8	5	39(26,13)	89,6
	3.	5	57	11.4	1	56(33,23)	98,3
						117(69,48)	
F_3	1.	7	53	7.6	10	43(21,22)	81,1
	2.	7	73	10.4	7	66(39,27)	90,4
	3.	7	81	11.6	7	74(44,30)	91,4
						183(104,79)	
F_4	1.	9	74	8.2	7	67(36,31)	90,4
	2.	9	80	8.9	15	65(30,35)	81,2
	3.	9	81	9.0	13	68(34,34)	84,0
						200(100,100)	
F_5	1.	14	119	8.5	13	106(57,49)	89,1
	2.	14	149	10.6	11	138(67,71)	92,6
	3.	13	134	10.3	7	127(72,55)	94,8
						371(196,175)	
F_6	1.	11	113	10.3	13	100(43,57)	88,5
	2.	11	104	9.4	7	97(48,49)	93,3
	3.	11	112	10.2	7	105(58,47)	93,8
						302(149,153)	
Zusammenfassung der Generationen F_1 - F_6							
F_1- F_6	1.	54	456	8.4	61	395(196,199)	86,6
	2.	53	530	10.0	64	466(244,222)	87,9
	3.	52	544	10.5	43	501(280,221)	92,1
						1362(720,642)	88,9

Tabelle 27: Durchschnittliche Größe der einzelnen Würfe und Überlebensraten der Jungtiere der Selektionsreihe S2

Gen.	Wurf	Anzahl der Weibch.	Anzahl der Jungtiere	Durchschnitt pro Weibch.	Anzahl d.abgestorb. Jungtiere	Anzahl d.überlebend. Jungtiere	Überlebende Jungtiere (in %)
P	1.	9	60	6.7	3	57(22,35)	95,0
	2.	9	82	9.1	8	74(38,36)	90,2
	3.	9	98	10.9	2	96(53,43)	97,9
						227(113,114)	
F_1	1.	4	35	8.7	4	31(19,12)	88,1
	2.	4	36	9.0	10	26(13,13)	72,2
	3.	4	35	8.7	7	28(15,13)	80.^
						85(47,38)	
F_2	1.	6	50	8.3	14	36(19,17)	72,0
	2.	6	58	9.7	5	53(32,21)	89,6
	3.	6	60	10.0	2	58(30,28)	96,6
						147(81,66)	
F_3	1.	7	48	6.9	13	35(18,17)	72,9
	2.	7	53	7.6	4	49(22,27)	92,4
	3.	7	65	9.3	13	52(31,21)	84,6
						136(71,65)	
F_4	1.	9	62	6.9	7	55(23,32)	88,7
	2.	9	74	8.2	5	69(35,34)	93,2
	3.	9	77	8.5	17	60(33,27)	77,9
						184(91,93)	
F_5	1.	8	58	7.2	1	57(27,30)	98,2
	2.	8	78	9.7	8	70(39,31)	89,7
	3.	8	81	10.1	4	77(42,35)	95,1
						204(108,96)	
F_6	1.	13	119	9.1	27	92(45,47)	77,3
	2.	13	108	8.3	18	92(53,39)	85,2
	3.	13	99	7.6	8	91(50,41)	91,9
						275(148,127)	
Zusammenfassung der Generationen P - F_6							
P-F_6	1.	56	432	7.7	69	363(173,190)	84,0
	2.	56	489	8.7	56	433(232,201)	88,5
	3.	56	515	9.2	53	462(254,208)	89,6
						1258(659,599)	87,6

stellung zutage, da die Zeitspannen zwischen der Verpaarung und dem 1.Wurf beider Weibchen eines Käfigs oft die gleichen waren. Obwohl beim 2. und 3.Wurf infolge der weiter auseinanderliegenden Zeitspannen eine bessere Kontrolle gegeben war, wurde auch hier das Verfahren der Mittelbildung ohne Feststellung der Streuung beibehalten. Als niedrigste Anzahl konnten im Verlaufe der Untersuchungen 3 Jungtiere pro Weibchen und als höchste Zahl 14 Junge pro Weibchen beobachtet werden.

Beim Vergleich der durchschnittlichen Wurfgrößen der drei Stämme dürften kaum signifikante Unterschiede zu ermitteln sein, auch dann nicht, wenn eine korrekte statistische Auswertung erfolgt wäre. Auf eine statistische Bewertung wurde in diesem Fall verzichtet, da die Streuungsmaße für die Mittelwerte nicht einwandfrei zu ermitteln waren. Für die Beurteilung der unterschiedlichen Wurfgrößen möge hierbei der numerische Vergleich der arithmetischen Mittel zur Abschätzung genügen. Dabei ist auffallend, daß nicht die durchschnittlichen Wurfgrößen der Kontrollen die größten Werte aufweisen, sondern die der Selektionsreihe S1. Deshalb ist offensichtlich nicht damit zu rechnen, daß die Cumarine einen Einfluß auf die Wurfgrößen der behandelten Weibchen ausüben. Die Unterschiede sind sicher in erster Linie auf individuelle Schwankungen der getesteten Weibchen zurückzuführen. Als weiteres Kriterium für die Beurteilung einer möglichen Schadenswirkung auf die Jungtiere können die Überlebensraten (p) bzw. Mortalitätsquoten (100 - p) der Jungen verglichen werden. Aus dem Vergleich der Prozentwerte von K und S1 sowie K und S2 lassen sich jedoch keine stichhaltigen Aussagen hinsichtlich einer Beeinflussung auf die Mortalität der Nachkommen durch Cumarineinwirkung ableiten. Die statistische Auswertung des 1.Wurfes ergab für K/S1 ein χ_1^2 von 2,3 und ein P von 0,13 und für K/S2 ein χ_1^2 von 7,0 und ein P von 0,008. Ein statistischer Vergleich des 2. und 3.Wurfes wurde nicht vorgenommen, da von vornherein aufgrund der geringen Differenzen keine Signifikanz zu erwarten war. Obwohl zwischen K und S2 schwache Signifikanz (P = 0,008) besteht, ist es trotzdem fraglich, mit einem Einfluß des Agens auf die Sterblichkeitsquote der Nachkommen zu rechnen. Der Grund für die Unterschiede dürfte vielmehr auf unkontrollierten Versuchsbedingungen beruhen.

Aus den Tabellen ist weiterhin ersichtlich, daß die Prozentwerte des 3.Wurfes von K sogar niedriger liegen als die vergleichbaren Werte für S1 und S2, so daß schon aus diesem Grunde die Notwendigkeit eines rechnerischen Vergleiches nicht gegeben ist.

Werden die Prozentwerte der überlebenden Jungtiere der 3 Würfe aus den Tabellen 25 - 27 für die 3 Stämme zusammengefaßt (K = 87.9%, S1 = 88.9%, S2 = 87.6%), so ist zu erkennen, daß nur minimale Abweichungen festzustellen sind. Der statistische Vergleich ergab für K/S1 ein χ^2_1 von 0.87 und ein P von 0.36 und für K/S2 ein χ^2_1 von 0.086 und ein P von 0.76. Die beiden P-Werte beweisen eindeutig, daß zwischen den Überlebensraten (bzw. Mortalitätsraten) aller drei Stämme keine signifikanten Unterschiede bestehen.

d. Geschlechtsverhältnis der Nachkommen

Bei der Prüfung des Geschlechtsverhältnisses der überlebenden Jungtiere nach dem χ^2-Verfahren ergaben sich für die drei Stämme voneinander abweichende Werte, und zwar für

Stamm K ein χ^2_1 von 0,51 bei einem P von 0,5, für

Stamm S1 ein χ^2_1 von 4,47 bei einem P von 0,03 und für

Stamm S2 ein χ^2_1 von 2,86 bei einem P von 0,1.

Diese Werte lassen erkennen, daß von K über S2 zu S1 ein Gefälle besteht, das unter Umständen mit der Höhe der applizierten Giftkonzentration korreliert sein kann. Der P-Wert für S1 von 0,03 erlaubt sogar die Annahme, daß die Abweichung vom 1 : 1 - Geschlechtsverhältnis zugunsten der Männchen schwach signifikant ist. Wenn auch diese Aussage, die auf einer rein numerischen Berechnung basiert, in eine bestimmte Richtung tendiert, so ist aber mit einer Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses durch Cumarineinfluß wohl nicht zu rechnen. Da die Geschlechterverteilung der abgestorbenen Jungtiere bei dieser Aufstellung unberücksichtigt blieb, kann aus der Geschlechterverteilung der überlebenden Nachkommen nicht ohne weiteres auf die Gesamtverteilung aller geborenen Jungtiere geschlossen werden. Schon allein aus dieser Tatsache verliert die rein zahlenmäßige Berechnung, die in diesem Fall die biologischen Gegebenheiten nicht vollständig berücksichtigt, an

Aussagekraft.

e. Körpergewichte 7 Wochen alter Versuchstiere

Zur weiteren Veranschaulichung des Aufzuchtvermögens werden in der folgenden Tabelle 28 die Körpergewichte der im Versuch getesteten Tiere dargestellt. Dabei wurden für alle drei Stämme das Durchschnittsgewicht $\bar{x}$ und der mittlere Fehler m bei einem durchschnittlichen Lebensalter von 7 Wochen zugrunde gelegt.

Tabelle 28: Durchschnittliche Körpergewichte (in g) nach 7 Wochen

Stamm	Weibchen				Männchen			
	n	$\bar{x}$	m	s_k	n	$\bar{x}$	m	s_k
K	308	20,86	±0,12	±2,11	325	25,04	±0,14	±2,58
S1	299	20,94	±0,13	±2,18	339	24,57	±0,14	±2,58
S2	314	21,94	±0,11	±2,04	322	25,64	±0,15	±2,60

Die Berechnung der Mittelwerte gestaltete sich wiederum nach dem Multiplikationsverfahren bei einer generellen Klasseneinteilung von 1 g. Die Streuung s_k berechnet sich entsprechend der vorher beschriebenen Methode. Der mittlere Fehler m errechnete sich als Quotient aus $\pm s_k$ durch Wurzel der Anzahl der Versuchstiere: $\pm s_k : n$.

Betrachtet man die Durchschnittsgewichte $\bar{x}$ in der Tabelle, so kann festgestellt werden, daß zwischen K und S1 nur geringfügige Differenzen bestehen, zwischen K und S2 jedoch Unterschiede größeren Ausmaßes existieren, besonders bei den Weibchen. Obwohl sich auch hier eine statistische Auswertung der unterschiedlichen Körpergewichte anbietet, wurde von einer Signifikanzprüfung abgesehen, da die Gewichte nicht nur von einem Faktor (Cumarinbelastung) abhängen, sondern von verschiedenen Bedingungen beeinflußt werden.

Als ein wesentlicher Gesichtspunkt ist hierbei die zeitlich unterschiedliche Feststellung der Gewichte anzuführen, denn es war aus technischen Gründen nicht zu vermeiden, daß ± Abweichung von 3 Tagen bei der Gewichtsfeststellung der 7 Wochen alten Versuchstiere auszuschalten. Ein weiteres Argument für

die abweichenden Durchschnittsgewichte liefert die Abhängigkeit der Körpergewichte von der jeweiligen Wurfgröße. Es ist bekannt, daß Einzeltiere eines kleinen Wurfes normalerweise schwerer sind als solche aus Würfen mit einer großen Geschwisterzahl. Die Unterschiede der durchschnittlichen Körpergewichte können somit zu Lasten einer reziproken Korrelation mit dem Ergebnis der Wurfgröße gehen. Für die Heterogenität dieser Ergebnisse ist weiterhin von Bedeutung, daß in den verschiedenen Jahreszeiten mit unterschiedlichen Wachstumsraten zu rechnen ist. Auch die Luftfeuchtigkeit und wahrscheinlich auch schwankende Luftdruckverhältnisse üben einen Einfluß auf die Gewichte aus. Da aber die vorliegenden Versuche nicht jederzeit unter konstanten Bedingungen durchgeführt werden konnten und die Testungen der Kontrollen und der Selektionsreihen teilweise mehrere Wochen auseinander lagen, lassen sich eventuelle Gruppenunterschiede aus den genannten Punkten nicht eindeutig reproduzieren, so daß von einer exakten Interpretation Abstand genommen werden soll.

Wenn auch die numerischen Werte eine teilweise schwache Signifikanz ergaben (die Berechnung erfolgte nach dem t-Verfahren bzw. mittels einer Varianzanalyse), so ist kaum mit einem Einfluß des Agens auf die Körpergewichte, gleich welcher Richtung, zu rechnen.

D.) Diskussion

Die im ersten Teil der Arbeit durchgeführten LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmungen an den drei Stämmen NMRI, SW und Mus musculus domesticus mit Cumarin führten in sechs Versuchsreihen (getrennte Protokollierung der Männchen und Weibchen) zu unterschiedlichen Werten. Wie aus Tabelle 7 zu entnehmen ist, wurden sowohl zwischen beiden Geschlechtern eines Stammes als auch zwischen den drei Stämmen Empfindlichkeitsunterschiede ermittelt.

Die Gegenüberstellung der Geschlechter zeigt deutlich, daß die Weibchen der drei Teststämme jeweils höhere LD_{50}- bzw. LD_{90}-Werte aufweisen. Da die Unterschiede zwischen den Geschlechtern der Größenordnung nach recht beträchtlich sind, dürfte damit

eine Überlegenheit der Weibchen über die Männchen in ihrer Cumarinempfindlichkeit bewiesen worden sein. Die Untersuchungen von REIFF und WIESMANN (1951), die mit 3-(α-p-Chlorphenyl-ß-acetyläthyl)-4-oxycumarin (Tomorin) gearbeitet und damit keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede in der Giftempfindlichkeit festgestellt haben, bedürfen also in dieser Hinsicht einer Korrektur. Es ist hierbei allerdings zu erwähnen, daß beide Autoren keine getrennte Protokollierung der Geschlechter vorgenommen haben, so daß ihre Aussagen nur relativ zu bewerten sind. Welche Ursache für die unterschiedliche Sensibilität zwischen den Männchen und den Weibchen verantwortlich zu machen sind, können anhand der durchgeführten Versuche nicht angegeben werden. Es ist unter Umständen damit zu rechnen, daß die Empfindlichkeit gegenüber Cumarin von den Geschlechtschromosomen abhängt. Dabei ist zu vermuten, daß die xx-Konstitution der weiblichen Geschlechtschromosomen die geringere Sensibilität gegenüber einer höheren bei den Männchen (xy) bedingt.

Wie aus Tabelle 7 weiterhin zu entnehmen ist, erwiesen sich die drei Teststämme gegenüber Cumarin ebenfalls als verschieden empfindlich. In den vergleichenden Untersuchungen hat sich gezeigt, daß die Wildmäuse am widerstandsfähigsten gegen Cumarin sind. Von den beiden Laborstämmen waren die SW-Tiere empfindlicher als die des NMRI-Stammes. Die Tatsache, daß zwischen den drei Teststämmen unterschiedliche LD_{50}- und LD_{90}-Werte ermittelt wurden, bedeutet jedoch für die Bekämpfungstechnik keine wesentlichen Schwierigkeiten. Obwohl aus den vorliegenden Befunden gefolgert werden kann, daß mit unterschiedlichen Empfindlichkeiten verschiedener geographischer Rassen und Populationen von Mus musculus zu rechnen ist, wird es möglich sein, alle Wildpopulationen mit den herkömmlichen Warfarinpräparaten erfolgreich zu bekämpfen, da alle LD_{50}- und LD_{90}-Werte unterhalb der Konzentration (0,025%; HOLZ und LANGE, 1957) liegen, die für Präparate in der Freilandbekämpfung überwiegend angewendet werden.

Die unterschiedliche Empfindlichkeit der drei Teststämme ist sicherlich in der jeweiligen genetischen Struktur zu suchen, die ihrerseits die physiologischen Gegebenheiten beeinflußt. Die verschiedenen Empfindlichkeiten der drei Mäusestämme dürf-

ten also direkt von ihrer Gensubstanz abhängig sein. Dabei ist anzunehmen, daß der Genbestand der Wildmäuse heterogener als der der beiden Laborstämme ist. Die größeren Streuungswerte für die LD_{50} und LD_{90} bei den Wildtieren gegenüber kleineren bei den Laborstämmen geben einen wesentlichen Anhaltspunkt für eine größere Heterogenität von M.m.domesticus. Da sich gerade die Wildtiere am wenigsten empfindlich gegen Cumarin zeigten, ist damit zu rechnen, daß in diesem Falle mit steigender Homogenität eine gesteigerte Empfindlichkeit einhergeht. Wenn man weiterhin voraussetzt, daß die SW-Tiere infolge längerer Inzucht bereits einen höheren Grad an Homogenität als die NMRI-Tiere aufweisen, dann kann wohl für die drei benutzten Mäusestämme eine direkte Abhängigkeit der Empfindlichkeit vom Grad der Homogenität angenommen werden.

Unabhängig von der unterschiedlichen Empfindlichkeit gegen Cumarin ist in diesem Zusammenhang weiterhin von Interesse, daß in geographisch weiter entfernten Gebieten mit einer divergierenden genetischen Struktur der Wildmäuse zu rechnen ist. Es ist nicht anzunehmen, daß Populationen von Mus musculus verschiedener geographischer Räume den gleichen Empfindlichkeitsgrad aufweisen. Durch geographische Isolation über genügend lange Zeiträume wird sich die genetische Struktur der einzelnen Gruppen in einem gewissen Maße differenziert haben, so daß in den verschiedenen Gegenden bei einem ersten Einwirken von Cumarin mit abweichenden Empfindlichkeitsgraden zu rechnen ist.

Um die LD_{50}- bzw. LD_{90}-Werte der Tabelle 7 besser beurteilen zu können, sind in Tabelle 8 die Tagesdosen aufgeführt, die der jeweiligen LD_{50} und LD_{90} der drei Stämme entsprechen. Diese Giftrationen, die jeweils an einem Tage aufgenommen wurden, geben jedoch nicht die tatsächlichen Gesamtmengen des Giftes wieder, die notwendig sind, um 50% bzw. 90% der Tiere abzutöten. Um einigermaßen günstige Ergebnisse zu erzielen, müssen diejenigen Dosen, bei denen 90% der Tiere absterben sollen, mindestens 2 Wochen lang verabfolgt werden, damit überhaupt ein toxischer Effekt durch Kumulation des Giftes hervorgerufen wird. Auch dann muß man noch damit rechnen, daß nicht alle vorhanden Mäuse vernichtet werden, denn in jeder genügend großen Population existieren immer einige hochresistente Tiere,

die dem Gift bei dieser Konzentration und einer 14tägigen Begiftung nicht erliegen. Wenn man aber eine Bekämpfungsaktion nicht nur über 2 Wochen, sondern über mehrere Wochen ausdehnt und weiterhin berücksichtigt, daß sich in jeder Freilandpopulation trächtige Weibchen befinden, die wesentlich empfindlicher auf Cumarin reagieren als nichtträchtige Weibchen, dann kann ein verhältnismäßig guter Erfolg erwartet werden. Außerdem ist es sehr wahrscheinlich, daß akut geschwächte Tiere, die sich unter Umständen wieder erholen können, von ihren Artgenossen (oder anderen Feinden) getötet werden, so daß schon aus diesem Grunde ein nachhaltiger Erfolg zu erzielen ist. Diese Angaben haben natürlich nur Gültigkeit, wenn die Aktion sachgemäß durchgeführt wird, wobei gleichzeitig auf die verhaltensphysiologischen Schwierigkeiten und die Entstehung echter Resistenz bei Mäusebekämpfungen hingewiesen werden soll. In diesem Zusammenhang entsteht außerdem die Frage, ob überhaupt damit zu rechnen ist, daß alle Mäuse mit dem ausgelegten Gift in Berührung kommen. Die Beantwortung dieser Frage ist äußerst schwierig, da sich die Giftaufnahme im Freiland nur schwer kontrollieren läßt.

Für die Beurteilung der Giftwirkung ist weiterhin folgender Gesichtspunkt von Bedeutung: Wie in den Ausführungen dargelegt wurde, zeigen einige Versuchstiere eine nur zeitweilige Schädigung, nach der sie sich wieder erholen. Der Prozentsatz der nur vorübergehend geschädigten Tiere ist im großen und ganzen von der Konzentration des Giftes abhängig. Allgemein konnte festgestellt werden, daß bei den mittleren Dosen eine größere Anzahl Mäuse eine nur zeitweilige Schädigung zeigten als bei niederen und hohen Konzentrationen. Es kann angenommen werden, daß in den beiden letztgenannten Fällen die Toleranzdosis entweder eindeutig überschritten oder gar nicht erreicht wird, um einen toxischen Effekt auszulösen. Diejenigen Tiere, die nur mit verhältnismäßig geringen Giftmengen in Berührung kommen, sind sicher in der Lage, das aufgenommene Cumarin bis zur nächsten Giftgabe wieder abzubauen, so daß keine Kumulation stattfinden kann. Bei denjenigen Tieren, denen extrem hohe Dosen verabfolgt wurden, ist nicht damit zu rechnen, daß sie den Cumaringehalt auf die entsprechende Menge abbauen können, die eine Wiedererholung gestattet. Demgegenüber kommt es im mitt-

leren Konzentrationsbereich häufiger zu Grenzsituationen, die eine größere Variabilität in bezug auf das "Alles oder Nichts" bedingen.

Wie es zu erwarten war, besteht eine direkte Abhängigkeit der Giftwirkung von der Konzentration. Je höher die Konzentration gewählt wird, um so niedriger liegen die Werte für die Fütterungsdauer und die Überlebenszeit der gestorbenen Tiere (s.Tabelle 9). Aus dem Vergleich der Durchschnittswerte der Fütterungsdauer und der Überlebenszeit der getöteten Tiere zwischen den Männchen und den Weibchen ist zu erkennen, daß in den meisten Fällen das weibliche Geschlecht den Männchen überlegen ist. Vergleicht man das Resultat der Überlebenszeiten der getöteten Tiere mit dem der LD_{50} und LD_{90}, so kann eine gewisse Übereinstimmung festgestellt werden, die erkennen läßt, daß virgine Weibchen weniger empfindlich auf eine Cumarinbelastung reagieren als die Männchen.

In diesem Zusammenhang sei weiterhin vermerkt, daß im allgemeinen hochkonzentriertes Giftgemisch nicht in dem Maße gefressen wurde, wie Gemische niederer Giftkonzentrationen. Es ist wohl damit zu rechnen, daß auch bei den Mäusen Actosin (ebenso wie alle anderen 4-Oxy-Cumarinderivate) eine geschmacksabweisende Wirkung besitzt. Die relativ niedrigen Gesamtdosen (Tabelle 10) bei den hohen Konzentrationen geben in dieser Hinsicht gewisse Anhaltspunkte, wenn auch dadurch noch kein endgültiger Beweis für eine geschmackliche Beeinträchtigung durch das Cumarin erbracht wird. Bei Wanderratten wurde eine deutliche geschmacksabweisende Wirkung des Warfarin festgestellt (TELLE, 1963). In Untersuchungen, die sich auf die Geschmacksfeststellung durch Cumarin beziehen, wurde als unterste Geschmacksschwelle für Warfarin die Konzentration von 0,005% ermittel. Giftköder dieser Konzentration wurden noch zu 94% im Gegensatz zu 100% bei den Kontrollen gefressen, während Warfarin-Haferflockengemische der Konzentration von 0,05% nur zu 25% angenommen wurden. TELLE kommt daher zu dem Ergebnis, daß die geschmacksabweisende Wirkung in erster Linie durch den Warfarinzusatz in Fertigködern hervorgerufen wird, wenn auch andere Ingredenzien handelsüblicher Präparate geschmacksabweisend wirken können, vor allem Farbstoffe und Fungizide. Aus den eigenen Ergebnissen

kann als Geschmacksschwelle des Warfarin auf Mäuse (insbesondere Wildmäuse), oberhalb derer die Versuchstiere das Warfarin identifizieren, die Konzentration von 0,001% angegeben werden.

Die im zweiten Teil der Arbeit beschriebenen Untersuchungen befassen sich mit der Selektion auf Resistenz bei Mäusen des Laborstammes NMRI, denen Cumarin als Selektionsagens appliziert wurde. Die Selektionsversuche führten in zwei getrennten Versuchsreihen zu relativ Cumarin-unempfindlichen Tieren, wobei in beiden Fällen der vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht bezogene Stamm NMRI als Ausgangsstamm und weiterhin als Kontrollstamm diente.

Der Verlauf des Resistenzanstieges in den Generationen zeigt in beiden Selektionsreihen (Konzentration 0,00250% und 0,00125%) im großen und ganzen einen stetigen Anstieg. Im Gegensatz zur Selektionsreihe 1, bei der der Resistenzanstieg dem S-förmigen Verlauf einigermaßen folgt, kann bei der Selektionsreihe 2 aus dem Anstieg der Resistenz nicht unmittelbar ein S-förmiger Verlauf der Kurve abgelesen werden. Es ist aber aufgrund der Kenntnisse von Selektionsvorgängen zu erwarten, daß auch diese Selektionskurve bei einer größeren Anzahl getesteter Individuen den typischen S-förmigen Verlauf nimmt, der für Selektionsprozesse charakteristisch ist. Die teilweise aufgetretenen Schwankungen in beiden Selektionsreihen sind vermutlich in Zufälligkeiten begründet, denn es kann der Fall eingetreten sein, daß bei dem wahllosen Herausgreifen (nicht alle Nachkommen wurden für die weitere Selektion verwendet) der für die Fortführung der Selektion notwendigen Tiere manchmal zufällig entweder besonders resistente oder sensible Individuen Verwendung fanden. Diese Schwankungen innerhalb der Selektionsreihen können aber auch infolge des noch verhältnismäßig hohen Heterogenitätsgrades hervorgerufen worden sein.

Der zeitliche Verlauf des Resistenzanstieges ging in beiden Reihen nicht konform. In der Selektionsreihe 1 zeigte sich im Vergleich zum Kontrollstamm bei den Männchen bereits von der F_2 ab (2.Gruppe) eine statistisch gesicherte Differenz zwischen den Überlebensraten, während bei den Weibchen erst von der F_3 ab (2.Gruppe) Signifikanz festzustellen ist. Dagegen

tritt in der Selektionsreihe 2 eine statistisch gesicherte Differenz der Überlebensraten zwischen den Kontrollen und den selektionierten Tieren erstmals in der F_4 auf, und zwar bei beiden Geschlechtern; eine schwache Signifikanz ist bei diesen Weibchen jedoch schon in der F_3 festzustellen. Da für beide Selektionsreihen der gleiche Ausgangsstamm verwendet wurde, ist daraus zu folgern, daß innerhalb der Selektionsreihe 1 früher Resistenzerscheinungen auftreten als bei den Tieren der Selektionsreihe 2. Der Grund des frühzeitigeren Auftretens von Resistenz in der 1.Selektionsreihe ist sicherlich in der Begiftung mit der stärkeren Dosis im Vergleich zu S2 zu suchen. Je größer die Giftmenge ist, d.h. je gründlicher selektioniert wird, desto schneller wird die Giftempfindlichkeit der Versuchstiere herabgesetzt. Entsprechend ist zu erwarten, daß bei schärferer Selektion früher mit Resistenzerscheinungen zu rechnen ist. Auf der gleichen Grundlage dürfte auch die unterschiedliche Höhe des Resistenzgrades beider Selektionsreihen nach Beendigung der Selektion beruhen. Tabelle 29 enthält zusammenfassend die Selektionsvorteile δ und die Vernichtungswahrscheinlichkeiten VW für den Kontrollstamm und die beiden Selektionsreihen S1 und S2, aus denen der Resistenzgrad unmittelbar abgelesen werden kann.

Tabelle 29: Selektionsvorteile (δ) und Vernichtungswahrscheinlichkeiten (VW) der Selektionsreihen S1 und S2 gegenüber dem Kontrollstamm bei Cumarinbegiftung

Stamm	Generation	δ		VW	
		Weibchen	Männchen	Weibchen	Männchen
S1	F_6	0,373	0,252	1000:627	1000:647
	F_5+F_6	0,406	0,350	1000:594	1000:650
S2	F_6	0,264	0,229	1000:736	1000:771
	F_5+F_6	0,261	0,260	1000:739	1000:740

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß der Selektionsstamm 1 einen höheren Resistenzgrad erreicht hat als die Tiere der Selektionsreihe 2. Der höhere Resistenzgrad spiegelt sich auch in den Überlebenswahrscheinlichkeiten (ÜW) wider, die sich als Quotient aus der VW berechnen. Die Überlebenswahr-

scheinlichkeiten sagen aus, um wieviel mal höher die Überlebenschance der selektionierten Tiere im Gegensatz zu den Kontrolltieren ist. Diese Zahlen geben ebenfalls Auskunft über die Höhe des Resistenzgrades; je größer die Werte ausfallen, um so höher ist der Grad der Resistenz in der betreffenden Generation. In Tabelle 30 sind die aus den VW berechneten ÜW zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 30: Überlebenswahrscheinlichkeiten (ÜW) der beiden Selektionsreihen S1 und S2 gegenüber dem Kontrollstamm bei Cumarinbegiftung

Stamm	Generation	Weibchen	Männchen
S1	F_6	1,68	1,54
	F_5+F_6	1,59	1,54
S2	F_6	1,35	1,35
	F_5+F_6	1,36	1,29

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die Weibchen des S1-Stammes in der F_6 den höchsten Wert aufweisen (die resistenten Weibchen besitzen eine 1,68 mal höhere Überlebenswahrscheinlichkeit als die Kontrollweibchen), während für die Männchen des S2-Stammes in der F_5+F_6 der niedrigste Wert (1,29 mal höher als die Kontrollmännchen) ermittelt wurde.

Da in allen Versuchen die Männchen und die Weibchen stets getrennt protokolliert wurden, kann die Reaktion der beiden Geschlechter auf die Cumarineinwirkung direkt abgelesen werden, wie aus den Tabellen 29 und 30 ersichtlich ist. Es wurde festgestellt, daß sowohl in der Selektionsreihe 1 als auch in der Selektionsreihe 2 jeweils eine Überlegenheit der Weibchen den Männchen gegenüber zu verzeichnen ist. Dies gilt nicht nur für die resistenten Tiere, sondern auch für die sensiblen Kontrolltiere, bei denen die Weibchen ebenfalls höhere Überlebensraten zeigen. Auf die Geschlechtsunterschiede des Ausgangsstammes hinsichtlich der Cumarinempfindlichkeit wurde bereits hingewiesen.

Der höhere Resistenzgrad bei den Weibchen, wie er auch aus der Drosophila-Genetik (u.a. BOCHNIG, 1954) bekannt ist, hängt sicher mit physiologischen Eigenarten der Geschlechter zusammen.

Es ist damit zu rechnen, daß die Weibchen in einem größeren Umfange als die Männchen in der Lage sind, das aufgenommene Gift in nichttoxische Verbindungen abzubauen und damit den Gifteffekt zu mindern.

Obwohl generell angenommen werden kann, daß Cumarin-resistente Mäuse eher in der Lage sind als die sensiblen Individuen, das applizierte Gift abzubauen, können keine Aussagen über den Umfang eventueller Abbaureaktionen gemacht werden. Es ist aber vermutlich damit zu rechnen, daß bei Cumarin-resistenten Mäusen das toxische Cumarin in weniger giftige bzw. ungiftige Verbindungen fermentativ abgebaut wird. Bei Drosophila melanogaster wurde bereits ein fermentativer Abbau von DDT bei DDT-resistenten Stämmen nachgewiesen (PÜSCHMANN, 1961). Auch bei Musca domestica wurde von verschiedenen Autoren (u.a. RIFF, 1953) ein fermentativer Abbau von DDT festgestellt.

Wenn auch in den Selektionsversuchen bereits ein relativ hoher Resistenzgrad erreicht wurde, so ist aber trotzdem damit zu rechnen, daß bei weiterer Selektion der Grad der Resistenz noch gesteigert werden kann, insbesondere bei Begiftung mit noch höheren Dosen. Besonders in der Selektionsreihe 1 kann die Resistenz bei gleicher Konzentration (0,00250%) sicherlich noch gesteigert werden, während in der Selektionsreihe 2 bereits ein gewisser Sättigungseffekt zu verzeichnen ist, der keine wesentliche Steigerung der Resistenz bei der Konzentration von 0,00125% mehr zuläßt. Eine weitere Steigerung des Resistenzgrades in der 2.Selektionsreihe wird nur durch eine Erhöhung der Konzentration zu erreichen sein. Für beide Selektionsreihen ist nicht anzunehmen, daß nach dem Abbruch der Selektion bereits der Zustand erreicht wurde, bei dem keine weitere Resistenzsteigerung mehr stattfinden kann. Die für die Resistenz verantwortlichen Gene, die von vornherein in den zahlreichen Individuen vorhanden gewesen sein müssen, werden in den letzten vorliegenden Generationen erst ein gewisses Maß an Anreicherung erreicht haben. Die maximal mögliche Anreicherung und Kombination der Resistenzgene ist also wahrscheinlich noch nicht abgeschlossen. Die für die Steigerung der Resistenz verantwortlichen Gene sind demnach erst zu einem Teil aus dem Ausgangsstamm selektioniert worden, so daß eine weitere Anreicherung von Resistenzgenen bei weiterer Selektion

noch erreicht werden kann. Da sich die widerstandsfähigsten Tiere des sensiblen Ausgangsstammes in bezug auf die Widerstandsfähigkeit gegen Cumarin zweifellos genetisch von ihren empfindlicheren Geschwistern unterscheiden, so ist die Steigerung der Resistenz gewiß nicht monofaktoriell bedingt. Es ist eher anzunehmen, daß durch den Selektionsvorgang eine Vielzahl verschiedener resistenzbedingender Gene, die sich im Verlaufe der Selektion summiert und kombiniert haben, für die Resistenzsteigerung verantwortlich zu machen sind. Deshalb ist im vorliegenden Falle mit einer polyfaktoriellen Bedingtheit der Resistenz gegen Cumarin zu rechnen. Bei DDT-resistenten Stämmen von Drosophila melanogaster wurde eine polyfaktorielle Bedingtheit der Resistenz bereits beschrieben (BOCHNIG, 1954). Die Frage, ob sich die Cumarin-Resistenzgene über das gesamte Genom der Mäuse erstrecken oder ob einem bestimmten Chromosom der insgesamt 20 Chromosomen der Maus eine besondere Bedeutung zukommt, muß offengelassen werden. Auch können keine Aussagen über den Erbgang des Merkmals "Resistenz gegenüber Cumarin" gemacht werden, da keine Kreuzungsexperimente mit resistenten und sensiblen Mäusen durchgeführt werden konnten. Es ist aber nach den Ergebnissen der Drosophila-Genetik zu vermuten, daß der Erbgang semidominant verläuft, so daß es bei der Kreuzung zwischen sensiblen und resistenten Mäusen gleichgültig wäre, ob die für die Resistenz verantwortlichen Gene vom Vater oder der Mutter kommen. Daraus wäre zu folgern, daß "Resistenz gegenüber Cumarin" durch Gene manifestiert wird, die im Kern lokalisiert sind, wenn auch dadurch nicht ausgeschlossen werden kann, daß plasmatische Faktoren an der Ausprägung der Resistenz beteiligt sind.

Es besteht weiterhin die Möglichkeit, daß im Verlaufe der Experimente spontane Mutationen mit einer resistenzsteigernden Wirkung aufgetreten sind. Besonders bei einer großen Individuenzahl, wie sie beispielsweise in der Natur vorliegt, besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür. Setzt man bei der Maus das Vorhandensein von 2×10^4 Genen voraus und rechnet mit einer durchschnittlichen spontanen Mutationsrate von 10^{-6}, so kann im Durchschnitt in 2% der Keimzellen ein neues, spontan entstandenes Allel erwartet werden. Da sich aber nur ein ganz geringer Teil der mutierten Gene auf die Reaktion der Mäuse

gegenüber Cumarin auswirkt, kann angenommen werden, daß wegen der im Versuch verwendeten geringen Individuenzahl keine spontan entstandenen Mutationen, die die Reaktion auf Cumarin beeinflussen, aufgetreten sind. Die für die Resistenzausprägung verantwortlichen Gene dürften demnach bereits alle vor Beginn der Behandlung in diesem Stamm vorhanden gewesen sein. Es ist ebenfalls nicht damit zu rechnen, daß durch die Cumarineinwirkung induzierte Mutationen resistenzsteigernder Wirkung entstanden sind, obwohl richtungslose Mutationen durch Cumarineinfluß zu erwarten sind, da sich Dicumarol und verschiedene Cumarinderivate als mutagen erwiesen haben (BARTHELMESS, 1956).

Von Interesse wäre die Untersuchung, ob nach beendeter Selektion der erreichte Resistenzgrad erhalten bleibt oder ob er im weiteren Verlaufe absinkt. Da Versuche in dieser Richtung nicht durchgeführt werden konnten, ist es nicht möglich, Aussagen über einen eventuellen Resistenzabfall zu machen. Es besteht aber die Wahrscheinlichkeit, daß im Laufe der Zeit, wenn also keine Begiftung mit anschließender Selektion erfolgt, ein Absinken des Resistenzgrades stattfindet. Das Absinken des Resistenzgrades würde im vorliegenden Fall wahrscheinlich ziemlich rasch erfolgen, da nach Abbruch der Versuche noch keine Homogenität des Merkmals "Resistenz gegenüber Cumarin" erreicht werden konnte und die vorhandenen Resistenzallele größtenteils erst heterozygot vorliegen werden. Da im vorliegenden Fall die Selektion auf einem noch relativ hohen Heterogenitätsstadium abgebrochen wurde, ist zu erwarten, daß nach einem raschen Abfall der Resistenz dennoch ein bestimmtes Resistenzniveau beibehalten wird. Nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz bleibt dieses einmal erreichte Resistenzniveau erhalten, da die Häufigkeit der Allele konstant ist, wenn keine weitere Selektion erfolgt.

Eine sinnvolle Ergänzung für die ermittelte Resistenzsteigerung der selektionierten Tiere geben die Verhältnisse der durchschnittlichen Fütterungsdauer und die Überlebenszeit der getöteten Versuchstiere (s. Tabellen 15, 16 und 21, 22). In beiden Selektionsreihen hat es sich gezeigt, daß besonders bei den Männchen signifikante Differenzen der Durchschnittswerte der Überlebenszeit von K und S1 bzw. S2 ermittelt worden sind, während bei den Weibchen im Gegensatz dazu teilweise

nur schwache Signifikanz festzustellen war. Da in beiden Selektionsreihen mit dem höheren Resistenzgrad der Weibchen schwache Signifikanz der Differenzen der Überlebenszeit und mit dem niedrigeren Resistenzgrad der Männchen starke Signifikanz der Differenzen der Überlebenszeit einhergeht, besteht allem Anschein nach eine reziproke Korrelation zwischen dem Resistenzgrad und der Überlebenszeit der gestorbenen Tiere. Aus den signifikanten Differenzbeträgen ist ferner zu entnehmen, daß auch diejenigen Versuchstiere, die innerhalb der Selektionsreihen dem Gift erliegen, einen höheren Resistenzgrad als die vergleichbaren Tiere der Kontrollreihen erreicht haben.

Im dritten Teil der Arbeit wurden die Zeitspannen zwischen den einzelnen Würfen, die Wurfgrößen und Überlebensraten der Jungtiere, das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen und die Körpergewichte der 7 Wochen alten Versuchstiere für die beiden Selektionsreihen S1 und S2 und für den Kontrollstamm K untersucht. Bei der Auswertung dieser Untersuchungen wurde übereinstimmend festgestellt, daß nicht mit einem Einfluß des Agens auf diese 4 Charakteristika zu rechnen ist. Wenn auch teilweise schwache Signifikanz zwischen den Selektionsreihen und den Kontrollen ermittelt worden war, so dürfte doch aus der Gesamtheit dieser Ergebnisse keine direkte Abhängigkeit vom verabreichten Gift resultieren. Die teilweise voneinander abweichenden Resultate sind vermutlich auf Unsicherheitsfaktoren zurückzuführen, die in keinem Experiment mit lebenden Individuen vollständig auszuschalten sind.

Da in den vorliegenden Untersuchungen zwei gegen Cumarin relativ resistente Stämme von NMRI gewonnen wurden, muß auch bei der praktischen Bekämpfung der Wildmäuse mit Mißerfolgen infolge Resistenzentstehung gerechnet werden. Es ist jederzeit zu erwarten, daß nach einer Cumarinbekämpfung einzelne, von vornherein sehr widerstandsfähige Mäuse überleben, die eine besonders hohe Toleranz aufweisen und die deshalb dem verabfolgten Gift nicht erliegen. Bei Freilandbekämpfungen und auch in Laborversuchen hat es sich immer wieder gezeigt, daß einige besonders resistente Mäuse überleben (K.BECKER, mündlich; WILSON, 1961). Nicht nur bei Mäusen, sondern auch bei Rattus norvegicus wurden überlebende Tiere infolge geringer Giftempfindlichkeit gegenüber dem Warfarin beobachtet (BOYLE, 1960;

CUTHBERT, 1963). Nach den am Laborstamm NMRI gewonnenen Versuchsergebnissen erhebt sich die Frage, ob bei Wildmäusen ebenfalls eine durch Selektion bedingte resistenzsteigernde Wirkung infolge Cumarineinfluß zu verzeichnen ist. Wenn man von dem Resultat der Laborversuche ausgeht und annimmt, daß die immer wieder beobachteten überlebenden Wildmäuse mit genügend hohen Cumarindosen in Berührung gekommen sind, wodurch bereits ein erster selektiver Druck in Richtung Resistenz ausgeübt wird, so muß auch bei den Wildmäusen eine Resistenzsteigerung angenommen werden. Genau wie beim Laborstamm ist bei den Wildtieren durch eine andauernde Begiftung mit anschließender Selektion und Kombination der resistenzausprägenden Allele echte Resistenz zu erwarten. Dabei ist jedoch ein Unterschied in der Schnelligkeit der Resistenzausprägung zwischen den Labor- und Wildmäusen zu erwarten, denn es ist anzunehmen, daß der Selektionsdruck bei den freilebenden Mäusen in der Regel schwächer ist und langsamer wirkt als bei den Labortieren.

Die Resistenzentwicklung bei freilebenden Mäusen wird weiterhin von spezifischen Faktoren abhängig sein, die im Laborversuch weitgehend ausgeschaltet werden können. Es ist beispielsweise anzunehmen, daß akut geschwächte Mäuse aus Populationen in Freiheit eher vernichtet werden (Abtötung durch Artgenossen, natürliche Feinde u.a.), als es im Labor bei der Einzelhaltung der Versuchstiere der Fall ist. Außerdem ist zu beachten, daß sich in jeder Freilandpopulation trächtige Weibchen befinden und daß diese wegen ihrer besonders hohen Cumarinempfindlichkeit schneller dem Gift erliegen als die übrigen Tiere (nichtträchtige Weibchen und Männchen). Da aber die hochempfindlichen trächtigen Weibchen in den Laborversuchen nicht verwendet wurden, ist schon aus diesem Grunde eine Verschiebung in der Resistenzentwicklung zu erwarten, und zwar zugunsten einer schnelleren bei Labortieren. Die geringere Generationsfolge der Wildmäuse gegenüber einer gleichbleibenden bei den Labortieren während eines Jahres wird sich weiterhin hemmend auf die Geschwindigkeit der Resistenzentwicklung unter natürlichen Bedingungen auswirken.

Obwohl nach den beschriebenen Ergebnissen eine Resistenzsteigerung bei Wildmäusen im Laufe der Zeit erwartet wird, müssen doch Mittel und Wege gefunden werden (unabhängig von den Fak-

toren, die einer Resistenzentstehung entgegenwirken), die eine nahezu vollständige Vernichtung von Mäusepopulationen garantieren und die die Selektionsvorgänge in Richtung "Resistenz gegenüber Cumarin" weitgehend ausschalten. In erster Linie ist hierbei an die Anwendung von Kombinationspräparaten und an eine nachfolgende Bekämpfung mit Schlagfallen gedacht. Nach jeder Cumarinbekämpfung ist also darauf zu achten, daß eine anschließende Nachbehandlung der überlebenden Tiere durchgeführt wird. Man muß deshalb jederzeit bestrebt sein, einen maximalen Erfolg bei Bekämpfungen zu erzielen, denn es läßt sich absehen, daß beim Überleben widerstandsfähiger Tiere und dauernder Umkombination der Resistenzallele sich im Laufe der Jahre ein wesentlich resistenterer Genbestand hinsichtlich der Cumarinempfindlichkeit herausbildet.

E.) Zusammenfassung

1. Durch LD_{50}- und LD_{90}-Bestimmungen wurde für drei Mäusestämme, und zwar für Wildmäuse der Unterart Mus musculus domesticus und für die beiden Laborstämme NMRI und SW, eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegen das in Abschnitt B 1 beschriebene Cumarin ermittelt.

Die Untersuchungen, die aus einem Material von 2 108 Versuchstieren gewonnen wurden, ergaben, daß sowohl zwischen den drei Stämmen als auch zwischen den Geschlechtern eines Stammes unterschiedliche LD_{50}- bzw. LD_{90}-Werte festgestellt worden sind. Es erwiesen sich dabei die Wildmäuse am widerstandsfähigsten und der SW-Stamm am sensibelsten, während der NMRI-Stamm in seiner Empfindlichkeit zwischen den beiden Stämmen liegt. Mit steigender Homogenität der Versuchsstämme geht wahrscheinlich eine gesteigerte Empfindlichkeit einher. Von den beiden Geschlechtern sind jeweils die Weibchen widerstandsfähiger als die Männchen.

2. Durch Selektion bei zwei verschiedenen Konzentrationen (0,00250% = S1 und 0,00125% = S2) wurden nach 9 bzw. 6 Generationen zwei Cumarinresistente Stämme gewonnen, die jedoch noch nicht als homogen angesehen werden können. Beide Selek-

tionsreihen wurden vom sensiblen NMRI-Stamm abgeleitet. Im Verlaufe der Selektion wurden insgesamt 1 484 Versuchstiere getestet.

3. In der Geschwindigkeit der Resistenzentwicklung und in der Resistenzhöhe ergaben sich in den beiden Stämmen Unterschiede, wobei eine Abhängigkeit des Resistenzgrades von der Konzentration festgestellt wurde. Die Resistenzentstehung setzte bei S1 früher als bei S2 ein; die Resistenzhöhe erreichte beim Selektionsstamm 1 einen höheren Grad als beim Selektionsstamm 2. Die Weibchen wiesen dabei meist höhere Überlebensraten auf als die Männchen. Im Gegensatz zur Selektionsreihe 1 wurde bei der Selektionsreihe 2 ein gewisser Sättigungseffekt beobachtet.

4. Zwischen dem Resistenzgrad und der Überlebenszeit der gestorbenen Tiere scheint in beiden Selektionsreihen eine reziproke Korrelation zu bestehen.

5. Die Zeitspannen wischen den einzelnen Würfen, die Wurfgrößen und die Überlebensraten der Jungtiere, das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen und die Körpergewichte der getesteten Tiere wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den resistenten Tieren und den sensiblen Kontrolltieren auf. Die Cumaringaben üben also keinen Einfluß auf die angegebenen Charakteristika bei den resistenten Mäusen aus.

6. Hohe Dosen von Cumarin besitzen eine geschmacksabweisende Wirkung auf Mäuse. Als Geschmacksschwelle wurde die Konzentration von 0,001% festgestellt.

F.) Literaturverzeichnis

1 ANONYM: Tomorin - ein neuer Weg in der Bekämpfung schädlicher Nager. J.R. Geigy A.G., Basel (1951)

2 ------: Laboratory studies of the acceptability and toxicity of diphacinone in solid baits to roof rats. CDC Technol.Branch, Summary of Investigation 15, 90-93 (1958/59)

3 ------: Rep.Intern.Conf. on harmful mammals and their control, Paris, Februar 1959

4 ------: Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover: Mitteilungen 1962/63

5 ------: Prolin: Newest of the anticoagulants. Pest Control 31, No. 1, 42 (1963)

6 ARMOUR, C.J. and S.A. BARNETT: The action of dicoumarol on laboratory and wild rats, and its effect on feeding behaviour. J. Hyg. 48, 158-170 (1950)

7 BELITZ, H.J.:Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie. Der Mathematikunterricht 3, 83-103 (1960)

8 BENTLEY, E.W. and Y. LARTHE: The comparative rodenticidal efficiency of five anticoagulants. J. Hyg. 57, 135-149 (1959)

9 BLOCH, S.: Weitere Untersuchungen über die hormonalen Grundlagen der Nidation. Gynaecologia 148, 157-174 (1947)

10 BOCHNIG, V.: Genetische Untersuchungen zur DDT-Resistenz an Drosophila melanogaster. Z.indukt.Abstammungs- und Vererb.-Lehre 86, 185-209 (1954)

11 -------: Über die genetischen Grundlagen der Insektizidresistenz bei Fliegen. Z.angew.Zool. 46, 392-397 (1959)

12 BOYLE, O.M.: Case of apparent resistance of Rattus norvegicus BERKENHOUT to anticoagulant poisons. Nature (London) 188, No. 4749, 517 (1960)

13 BROCK, N. und W. WILK: Zur Ernährung der Laboratoriumstiere. 1. Mitteilung: Altromin R - eine Standard-Diät für Ratte und Maus. Arzneim.-Forschg. (Drug Res.) 11, 1071-1086 (1961)

14 BRUCE, H.M.: The feeding and breeding of laboratory animals. VI. The breeding of mice. J. Hyg. (London) 45, 420-430 (1947)

15 BUSVINE, J.R.: A critical review of the techniques for testing insecticides, 167-178 (1957)

16 CUTHBERT, J.H.: Further evidence of resistance to warfarin in the rat. Nature (London) 198, No. 4882, 807-808 (1963)

17 GEHRING, R.: Zur Zucht und Haltung der weißen Maus.
I. Beobachtungen zur Fortpflanzungsbiologie.
Zbl. Vet.Med. 3, 742-766 (1956)

II. Paarungsmethoden und Produktivität.
Zbl. Vet.Med. 5, 889-908 (1958)

18 GRÜNEBERG, H.: The Genetics of the Mouse. Den Haag (1952)

19 HAGEMANN, E. und G. SCHMIDT: Ratte und Maus, 1. Auflage (1960)

20 HAYES, W.J. and T.B. GAINES: Laboratory studies of five anticoagulant rodenticides.
Publ. Health Rep. 74, 105-113 (1959)

21 HOLZ, W. und B. LANGE: Fortschritte in der chemischen Schädlingsbekämpfung, 4. Auflage (1957)

22 HUNOLD, G.A. und B. SCHÜHLEIN: Analytischer Beitrag zur Bestimmung der Rattengiftstoffe im Actosin und Tomorin.
Z.f.Hyg.Zool. u. Schädlingsbek. 40, 129-133 (1952)

23 KOLLER, F., F. LOELINGER, DÜCKERT und H. HUWANG: Über einen neuen Gerinnungsfaktor (Faktor VII) und seine klinische Bedeutung.
Dtsch. med. Wschr. 77, Nr. 17, 528-533 (1952)

24 LANGE, B.: Die chemische Schädlingsbekämpfung, Rodentizide.
Praxis u. Forschg. f.d. fortschr. Landwirt (Oldenburg) 6, 200-204 (1954)

25 LINKE, A.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Dicumarol und Tromexan auf den Prothrombingehalt des Blutes, die Kapillarresistenz und die Kapillarpermeabilität.
Dtsch. med. Wschr. 77, 775-780 (1952)

26 PARKES, A.S.: The length of the oestrus cycle in the unmated normal mouse: records of 1000 cycles.
Brit. J. Exp. Biol. 5, 371-377 (1928)

27 PÜSCHMANN, S.: Biochemische Untersuchungen an sensiblen und DDT-resistenten Stämmen von Drosophila melanogaster.
Z. angew. Zool. 48, 199-214 (1961)

28 REIFF, M.: Antikoagulantien als Rodentizide.
Chem. Rundschau 5, 1-20 (1952)

29 -------- : Nachweis des fermentativen Abbaus der DDT-Wirksubstanz mit Fliegenextrakten im Papierchromatogramm.
Rev. Suisse Zool. 62, 218-224 (1955)

30 -------- und R. WIESMANN: Untersuchungen über ein neues Rodentizid mit kumulativer Wirkung auf Basis der Cumarinderivate.
Acta Tropica 8, 97-130 (1951)

31 REPPEL, L.: Antikoagulantien. 1.Teil: Die Blutgerinnung und ihre Beeinflussung durch Cumarine und Indandione.
Pharmazie 18, 381-391 (1963)

32 SALZMANN, R.C.: Beiträge zur Fortpflanzungsbiologie von Meriones shawi (Mammalia, Rodentia).
Rev. Suisse de Zool. 70, 343-452 (1963)

33 SCHERING-Information 5 (1956): Moderne Rattenbekämpfung.

34 STEINIGER, F.: Rattenbiologie und Rattenbekämpfung, Stuttgart (1952)

35 ---------- : Über die Giftigkeit des Actosin-Wirkstoffes für Haustiere. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 4, Nr. 10, 1-5 (1952)

36 ---------- : Fortschritte der Rattenbekämpfung. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 5, Nr. 4, 49-64 (1953)

37 TELLE, H.J.: Beiträge zur Anwendung cumarinhaltiger Präparate in der Nagetierbekämpfung. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) N.F. 9, 61-67 und 93-98 (1955)

38 ---------- : Die geschmacksabweisende Wirkung einiger Cumarinderivate. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 15, Nr. 5, 70-73 (1963)

39 WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. 4. Auflage (1961)

40 WILSON, E.J.: Warfarin resistance is not a widespread phenomenon. Municipal Engineering 3754, 1986 (1961)

41 ZIMMERMANN, K.: Zur Kenntnis der mitteleuropäischen Hausmäuse. Zool. Jb. (Systematik) 78, 301-322 (1949)

Lebenslauf

Am 16. September 1935 wurde ich, Peter Reimar R o l l, als Sohn des Regierungsinspektors Arthur Roll und seiner Ehefrau Johanne Roll, geb. Ebert, in Dresden geboren.
Von 1942-1950 besuchte ich die 8stufige Grundschule in Pirna/Elbe und anschließend, von 1950-1954, die 4stufige Kreisoberschule in Pirna, an der ich im Sommer 1954 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1954 zog ich von Pirna nach Westberlin, um in einem Sonderlehrgang die für die Bundesrepublik Deutschland notwendige Anerkennung der Hochschulreife zu erlangen. Am Goethe-Gymnasium in Berlin-Wilmersdorf bestand ich im Sommer 1955 die Sonderreifeprüfung.
Im Wintersemester 1955/56 ließ ich mich für das Fach Zoologie an der Freien Universität Berlin immatrikulieren, der ich bis zu meiner Exmatrikulation im Sommersemester 1963 ohne Unterbrechung angehörte. Nach dem 6. Semester bestand ich die Vorprüfung zur Diplomprüfung in Biologie in den Fächern Zoologie, Botanik, Chemie und Physik.
Meine Lehrer waren für das Fach Zoologie die Herren Professoren Dr. Ulrich, Dr. Herter, Dr. Günther, Dr. Urich und Dr. Kemper, für das Fach Allgemeine Biologie und Genetik Prof. Dr. Lüers und für das Fach Botanik die Herren Professoren Dr. Drawert und Dr. Eckardt. Chemie hörte ich bei den Herren Professoren Dr. Lautsch und Dr. Jahr, Physik bei den Herren Professoren Dr. Lassen und Dr. Honerjäger, Physikalische Chemie und Mathematik bei den Herren Professoren Dr. Ueberreiter und Dr. Vetter. Ferner hörte ich Pädagogik bei Prof. Dr. Müller und Philosophie bei Frau Prof. Dr. Kanthack.
Ende 1960 begann ich mit den praktischen Arbeiten für meine Dissertation. Sie entstand im Institut für Wasser- Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes, Berlin-Dahlem. Die Betreuung des Dissertationsthemas, das mir Herr Wissenschaftlicher Rat Dr. K. Becker überließ, übernahm Herr Prof. Dr. Kemper. Vom 1. April 1961 bis zum 31. März 1962 war ich wissenschaftlicher Hilfsassistent am Institut für Genetik der Freien Universität Berlin. Seit dem 1. Oktober 1963 bin ich als wissenschaftlicher Angestellter am Bundesgesundheitsamt, Max von Pettenkofer-Institut, Berlin-Dahlem, beschäftigt.

Photodruck der Photo Copie GmbH.